

UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Identificación y caracterización de garrapatas presentes en bovinos de las dos subregiones del departamento de Arauca, Colombia: Implicaciones como vector

Arlex Rodríguez-Durán

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia
Programa de Posgrados
Maestría en Salud Animal
Bogotá D.C., Colombia
2019

Identificación y caracterización de garrapatas presentes en bovinos de las dos subregiones del departamento de Arauca, Colombia: Implicaciones como vector

Arlex Rodríguez-Durán

Tesis de investigación presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Salud Animal

Director:

Jesús Alfredo Cortés Vecino

DMV., MSc., Ph.D.

Codirectora:

Jenny Jovana Chaparro Gutiérrez

DMV., MSc., Ph.D.

Línea de Investigación:

Microbiología - Epidemiología

Parasitología

Grupo de Investigación:

Parasitología Veterinaria UN

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia
Programa de Posgrados
Maestría en Salud Animal
Bogotá D.C., Colombia
2019

A Dios por ser mi todo, la luz en mi camino y la fortaleza de mis actos.

*A mi madre y hermanos, por ser ejemplo de fortaleza y apoyo para las bases de
mi educación.*

*Y a los bovinos por resistir y ser el centro de la cultura y base de la economía de
nosotros los araucanos*



Agradecimientos

Al Dr. Jesús Alfredo Cortés Vecino, director de este trabajo, por haber confiado en mí, por compartir sus conocimientos, experiencias y enriquecer mi formación como persona y profesional.

A la Dra. Jenny Jovana Chaparro Gutiérrez, codirectora de este trabajo, por brindarme la oportunidad de profundizar aún más en el conocimiento y contribuir en el desarrollo y la finalización de esta investigación.

A José del Carmen Soto Soto, gran amigo, por el acompañamiento al inicio y el final de este proceso de formación personal y profesional.

Al DMV., MSc., Ph.D. David Villar Argaiz, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia y el DMV., MSc., Ph.D. Alejandro Ramírez Hernández, Laboratorio de Parasitología del Departamento de Medicina Veterinaria Preventiva y Salud Animal de la Universidad de São Paulo por su contribución en la construcción de los capítulos 3 y 4 de esta tesis.

A la Gobernación del departamento de Arauca y el Vichada por el financiamiento de esta investigación. A los 63 productores ganaderos y administradores que me permitieron desarrollar este estudio en sus predios y bovinos.

Gracias a la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá y Orinoquía por permitirme desarrollar este Posgrado en tan importante institución educativa.

También, un eterno agradecimiento al Proyecto Bovino Arauca PBA por haber sido el vehículo para el ingreso académico y económico de este Posgrado.

Por último, especial mención a mi familia, a mi madre y hermanos por el apoyo incondicional durante esta etapa de mi vida.

¡MUCHAS GRACIAS A TODOS!

Resumen

Las garrapatas son una limitante en los sistemas de producción bovina del trópico del mundo, por causar estados patológicos, transmitir organismos patógenos y generar pérdidas económicas. El objetivo de la presente investigación fue caracterizar las especies de garrapatas que infestan el ganado bovino, su prevalencia, la transmisión de *Rickettsia* spp., la resistencia a acaricidas, los factores de riesgo y métodos de control aplicables al departamento de Arauca. Se examinaron 694 bovinos en 63 fincas distribuidas en las dos subregiones del departamento. Como resultados, la tasa de incidencia fue del 5% para los bovinos y del 7,9% para las fincas estudiadas. La prevalencia fue del 93,3% para los bovinos y del 100% para las fincas. Un total de 57.021 garrapatas fueron colectadas, de las cuales se confirmaron siete especies en los géneros *Amblyomma* y *Rhipicephalus*. La prevalencia más alta fue para *Rh. (B.) microplus* (96,5%), seguido por *A. cajennense* s.l. (2,4%), *Amblyomma* spp. (0,5%), *A. mixtum* (0,2%), *Rhipicephalus* spp. (0,1%), *A. dissimile* (0,0020%) y *Rh. sanguineus* (0,0020%). Se identificó por primera vez en Colombia, la infección de *Rickettsia amblyommatis* en *A. mixtum* colectada en bovinos. La resistencia a acaricidas fue hasta del 90% para algunos productos acaricidas. El Etión (622 ppm) fue el que presentó una eficacia del 100% y la Deltametrina perdió casi toda su eficacia (10% y 20%). La PCR-RFLP reveló tres genotipo de resistencia por la digestión con la enzima *EcoRI*, Heterocigoto W (n = 2), Mutante H (n = 3) y Homocigote tipo Salvaje (n = 3). Este estudio concluye que los 63 productores deben introducir otras alternativas de control como el MIG, teniendo en cuenta aspectos como las condiciones ambientales, el manejo, las instalaciones o tipologías productivas y raciales de cada sistema de producción ganadera en el departamento de Arauca. Asimismo, se debe profundizar en estudios complementarios para identificar cada patógeno que afecta el ganado bovino de esta zona de Colombia.

Palabras clave: Acaricidas, *Amblyomma* spp., epidemiología, *Rickettsia amblyommatis*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, Orinoquía.

Resumo

Os carrapatos são um fator limitante nos sistemas de produção bovina dos trópicos do mundo, pois causam estados patológicos, transmitem organismos patogênicos e geram perdas econômicas. O objetivo da presente investigação foi caracterizar as espécies de carrapatos que infestam bovinos, sua prevalência, o potencial vetorial de *Rickettsia* spp., A resistência a acaricidas, os fatores de risco e métodos de controle aplicáveis ao departamento de Arauca. Foram examinados 694 bovinos em 63 fazendas distribuídas nas duas sub-regiões do departamento. Como resultado, a taxa de incidência foi de 5% para bovinos e de 7,9% para as fazendas estudadas. A prevalência foi de 93,3% para bovinos e 100% para fazendas. Um total de 57.021 carrapatos foram coletados, dos quais sete espécies foram confirmadas nos gêneros *Amblyomma* e *Rhipicephalus*. A maior prevalência foi para *Rh. (B.) microplus* (96,5%), seguida por *A. cajennense* s.l. (2,4%), *Amblyomma* spp. (0,5%), *A. mixtum* (0,2%), *Rhipicephalus* spp. (0,1%), *A. dissimile* (0,0020%) e *Rh. sanguineus* (0,0020%). A infecção de *Rickettsia amblyommatis* em *A. mixtum* coletada em bovinos foi identificada pela primeira vez na Colômbia. A resistência acaricida foi de até 90% para alguns produtos acaricidas. 85,1% dos produtores utilizam o controle químico como única alternativa. A Etion (622 ppm) foi a que apresentou eficácia de 100% e a Deltametrina perdeu quase toda a sua eficácia (10% e 20%). O PCR-RFLP revelou três genótipos resistentes à resistência por digestão com a enzima EcoRI, H heterozigoto W (n = 2), Mutante H (n = 3) e Homozigoto tipo Wild (n = 3). Este estudo conclui que os 63 produtores devem introduzir outras alternativas de controle, como a MIG, levando em consideração aspectos como condições ambientais, manejo, instalações e tipologias produtivas e raciais de cada sistema de produção pecuária no departamento de Arauca. Da mesma forma, estudos complementares devem ser aprofundados para identificar cada patógeno que afeta o gado nessa área da Colômbia.

Palavras-chave: Acaricidas, *Amblyomma* spp., epidemiología, *Rickettsia amblyommatis*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, Orinoquia.

Abstract

Ticks are a limiting factor in the bovine production systems of the tropics of the world, because they cause pathological states, transmit pathogenic organisms and generate economic losses. The objective of the present investigation was to characterize the species of ticks that infest cattle, their prevalence, the vectorial potential of *Rickettsia* spp., the resistance to acaricides, the risk factors and control methods applicable to the department of Arauca. 694 bovines were examined in 63 farms distributed in the two subregions of the department. As a result, the incidence rate was 5% for cattle and 7.9% for the farms studied. The prevalence was 93.3% for bovines and 100% for farms. A total of 57,021 ticks were collected, of which seven species were confirmed in the genera *Amblyomma* and *Rhipicephalus*. The highest prevalence was for *Rh. (B.) microplus* (96.5%), followed by *A. cajennense* s.l. (2.4%), *Amblyomma* spp. (0.5%), *A. mixtum* (0.2%), *Rhipicephalus* spp. (0.1%), *A. dissimile* (0.0020%) and *Rh. sanguineus* (0.0020%). The infection of *Rickettsia amblyommatis* in *A. mixtum* collected in bovines was identified for the first time in Colombia. The acaricide resistance was up to 90% for some acaricide products. 85.1% of the producers use chemical control as the only alternative. The Ethion (622 ppm) presented an efficacy of 100% and the Deltamethrin lost almost all its efficacy (10% and 20%). The PCR-RFLP revealed three resistance resist genotype by digestion with the enzyme EcoRI, Heterozygous W (n = 2), Mutant H (n = 3) and Homozygous type Wild (n = 3). This study concludes that the 63 producers must introduce other control alternatives such as MIG, taking into account aspects such as environmental conditions, management, facilities and productive and racial typologies of each livestock production system in the department of Arauca. Likewise, complementary studies should be deepened to identify each pathogen that affects cattle in this area of Colombia.

Keywords: Acaricides, *Amblyomma* spp., epidemiology, *Rickettsia amblyommatis*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, Orinoquía.

Contenido

| | Pág. |
|--|------|
| Resumen..... | VII |
| Resumo..... | VIII |
| Abstract..... | IX |
| Lista de figuras..... | XIII |
| Lista de tablas..... | XV |
| Lista de anexos..... | XVI |
| Lista de símbolos y abreviaturas..... | XVII |
| Introducción..... | 21 |
| 1. Las garrapatas: verdadera limitante de los sistemas de producción bovina del trópico y subtrópico..... | 23 |
| 1.1 Generalidades de las garrapatas..... | 23 |
| 1.1.1 Clasificación taxonómica y morfología de las garrapatas..... | 23 |
| 1.1.2 Ciclo de vida y ecología..... | 25 |
| 1.1.3 Patogenia y transmisión de microorganismos..... | 27 |
| 1.1.4 Importancia económica y sanitaria de las garrapatas..... | 30 |
| 1.2 Departamento de Arauca..... | 31 |
| 1.3 Bibliografía..... | 33 |
| 2. Caracterización de las garrapatas del ganado bovino presentes en las dos subregiones del departamento de Arauca, Colombia..... | 43 |
| 2.1 Resumen..... | 43 |
| 2.2 Resumo..... | 44 |
| 2.3 Abstract..... | 44 |
| 2.4 Introducción..... | 45 |
| 2.5 Materiales y métodos..... | 46 |
| 2.5.1 Tamaño y selección de predios..... | 47 |
| 2.5.2 Selección de los bovinos..... | 47 |
| 2.5.3 Toma de las muestras..... | 48 |
| 2.5.4 Pruebas de laboratorio..... | 49 |
| 2.5.5 Análisis estadístico de los datos..... | 49 |
| 2.6 Resultados..... | 50 |
| 2.6.1 Especies de garrapatas identificadas en el departamento de Arauca..... | 52 |
| 2.7 Discusión..... | 57 |
| 2.8 Bibliografía..... | 61 |
| 3. Caracterización epidemiológica y factores de riesgo asociados a la presencia de garrapatas en bovinos del departamento de Arauca, Colombia..... | 65 |
| 3.1 Resumen..... | 65 |
| 3.2 Resumo..... | 66 |
| 3.3 Abstract..... | 67 |
| 3.4 Introducción..... | 67 |
| 3.5 Materiales y métodos..... | 68 |
| 3.5.1 Diseño del estudio..... | 69 |
| 3.5.2 Criterios de inclusión y exclusión..... | 69 |
| 3.5.3 Encuesta epidemiológica..... | 70 |

| | |
|---|-----|
| 2.5.4 Pruebas de laboratorio | 70 |
| 3.5.5 Análisis estadístico | 71 |
| 3.6 Resultados y discusión | 71 |
| 3.6.1 Detección molecular de <i>Rickettsia amblyommatis</i> | 72 |
| 3.6.2 Factores de riesgo asociados a la presencia de garrapatas | 73 |
| 3.6.3 Factores de riesgo asociados a la presencia de <i>Babesia</i> spp. | 76 |
| 3.7 Bibliografía | 77 |
| 4. Resistencia a acaricidas y estrategias de manejo y control para la infestación por garrapatas en el departamento de Arauca, Colombia | 81 |
| 4.1 Resumen | 81 |
| 4.2 Resumen | 82 |
| 4.3 Abstract | 83 |
| 4.4 Introducción | 84 |
| 4.5 Materiales y métodos | 85 |
| 4.5.1 Evaluación de la eficacia de siete tipos de acaricidas a infestación de <i>Rh. (B.) microplus</i> | 85 |
| 4.5.2 Amplificación del ADN de <i>Rh. (B.) microplus</i> | 87 |
| 4.5.3 PCR-RFLP a partir del ADN amplificado de <i>Rh. (B.) microplus</i> | 88 |
| 4.5.4 Análisis estadístico | 89 |
| 4.6 Resultados | 89 |
| 4.6.1 Métodos de control empleados en el departamento de Arauca | 89 |
| 4.6.2 Frecuencia y costos de tratamientos para el control de las garrapatas | 91 |
| 4.6.3 Eficacia <i>in vitro</i> a acaricidas tópicos en el departamento de Arauca | 93 |
| 4.6.4 Determinación del grado de resistencia de <i>Rh. (B.) microplus</i> por métodos moleculares en el departamento de Arauca, mediante la digestión de la enzima <i>EcoRI</i> | 94 |
| 4.6.5 Estrategias de manejo y control aplicables al departamento de Arauca | 96 |
| 4.6.5.1 Alteración del medio: Rotación de praderas | 97 |
| 4.6.5.2 Alteración del medio: Arado y conservación de potreros | 98 |
| 4.6.6.1 Control biológico: Pastos anti-garrapata | 98 |
| 4.6.6.2 Extractos vegetales | 99 |
| 4.6.6.3 Control biológico: Hongos entomopatógenos | 99 |
| 4.6.7.1 Control genético: Razas resistentes | 100 |
| 4.6.8.1 Control inmunológico: Vacunas | 101 |
| 4.6.8.1 Otras alternativas: Feromonas | 103 |
| 4.6.8.2 Otras alternativas: Medicina homeopática | 103 |
| 4.8 Bibliografía | 106 |
| 5. Conclusiones y Recomendaciones | 113 |
| 5.1 Conclusiones | 113 |
| 5.2 Recomendaciones | 114 |
| 6. Difusión, divulgación y reconocimiento de resultados | 115 |

Lista de figuras

Pág.

| | |
|---|--------------------------------------|
| Figura 1 - 1. Ciclos de vida de la familia Ixodidae de uno, dos y tres hospedadores | 27 |
| Figura 2 - 1. Limpieza y preparación de garrapatas para la extracción del ADN | ¡Error! Marcador no definido. |
| Figura 2 - 2. Distribución geográfica de los géneros de garrapatas en los predios del estudio | 51 |
| Figura 2 - 3. Especies de garrapatas identificadas en el departamento de Arauca | 53 |
| Figura 2 - 4. Garrapatas en estado parasitario en el departamento de Arauca.... | 54 |
| Figura 2 - 5. Especies de garrapatas caracterizadas en el departamento de Arauca | 55 |
| Figura 2 - 6. Producto de PCR obtenido de <i>Rh. (B.) microplus</i> del departamento de Arauca..... | 56 |
| Figura 2 - 7. Garrapatas en estado no parasítico en el departamento de Arauca | 57 |
| Figura 4 - 1. Clasificación por peso de las teleoginas de <i>Rh. (B.) microplus</i> | 86 |
| Figura 4 - 2. Tipo de control empleado por parte de los productores en las fincas del estudio en el departamento de Arauca..... | 90 |
| Figura 4 - 3. Productos de PCR después de digestión con EcoRI de <i>Rh. (B.) microplus</i> | 95 |

XI Identificación y caracterización de garrapatas presentes en bovinos de las dos
V subregiones del departamento de Arauca, Colombia: Implicaciones como vector

Lista de tablas

Pág.

| | |
|--|----|
| Tabla 2 - 1. Número de bovinos seleccionados por tipología productiva en el departamento de Arauca..... | 48 |
| Tabla 4 - 1. Principios activos y concentraciones de acaricidas tópicos empleados para determinar el grado de resistencia de <i>Rh. (B.) microplus</i> | 86 |
| Tabla 4 - 2. Principio activo de los químicos empleados por parte de los productores del estudio en el departamento de Arauca..... | 91 |
| Tabla 4 - 3. Variación de los costos económico de los acaricidas empleados para el control de las garrapatas en el departamento de Arauca | 92 |
| Tabla 4 - 4. Grado de resistencia a moléculas químicas de <i>Rh. (B.) microplus</i> en el departamento de Arauca..... | 93 |
| Tabla 4 - 5. Genotipos de resistencia observados en <i>Rh. (B.) microplus</i> | 96 |

Lista de anexos

Pág.

| | |
|---|-----|
| Anexo 1. Historia clínica empleada en la anamnesis para detectar formas parasíticas . | 122 |
| Anexo 2. Formato empleado durante el muestreo de garrapatas en vegetación en el departamento de Arauca..... | 122 |
| Anexo 3. Ficha de Laboratorio empleada durante la identificación taxonómica de las garrapatas colectadas en el departamento de Arauca | 123 |
| Anexo 4. Formato de encuesta epidemiológica empleada durante el muestreo de garrapatas en bovinos en el departamento de Arauca | 125 |
| Anexo 5. Número de especies de garrapatas observadas en la fase parasítica en los bovinos estudiados en el departamento de Arauca..... | 127 |
| Anexo 6. Número de especies de garrapatas observadas en la fase no parasítica en los bovinos estudiados en el departamento de Arauca..... | 127 |
| Anexo 7. Número de especies de garrapatas observadas en las dos fases de vida en los predios estudiados en el departamento de Arauca | 128 |
| Anexo 8. Número de garrapatas observadas por géneros en las dos fases de vida en los predios estudiados en el departamento de Arauca | 128 |
| Anexo 9. Descripción en detalle de las garrapatas observadas en los predios estudiados en el departamento de Arauca | 129 |

Lista de símbolos y abreviaturas

Símbolos con letras latinas

| Símbolo | Término | Definición |
|------------|-------------|---|
| <i>mm</i> | Milímetro | Longitud |
| <i>Km</i> | Kilometro | Longitud |
| <i>m</i> | Metro | Longitud |
| <i>mL</i> | Mili litro | Volumen |
| <i>mg</i> | Mili gramos | Peso |
| <i>g</i> | Gramos | Peso |
| <i>spp</i> | Especie | Especie taxonómica puntual de un género |

Símbolos con letras griegas

| Símbolo | Término |
|---------------|-------------|
| μL | Micro Litro |

Superíndices

| Superíndice | Término |
|-------------|------------------|
| <i>TM</i> | Trade Mark |
| ® | Marca registrada |

Abreviaturas

| Abreviatura | Término |
|---------------|---|
| <i>AIT</i> | Prueba de Inmersión en Adultos |
| <i>ADN</i> | Ácido desoxirribonucleico |
| <i>ARN</i> | Ácido ribonucleico |
| <i>BLAST</i> | Basic Local Alignment Search Too |
| <i>CAGR</i> | Tasa Anual Compuesta de Crecimiento |
| <i>CH</i> | Centesimal de Hahnemann |
| <i>Ct</i> | Número de ciclos |
| <i>COP \$</i> | Pesos colombianos |
| <i>DANE</i> | Departamento Administrativo Nacional de Estadística |
| <i>dNTP</i> | Desoxirribonucleótido trifosfato |
| <i>EcoRI</i> | Enzima de restricción <i>Escherichia coli</i> |
| <i>DNMI</i> | Distrito Nacional de Manejo Integrado |
| <i>EE.UU</i> | Estados Unidos de América |

| | |
|-----------------------|---|
| <i>FAO</i> | Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura |
| <i>FMVZ</i> | Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia |
| <i>GT</i> | Tiocianato de Guanidina |
| <i>H</i> | Hora |
| <i>H₂O</i> | Agua |
| <i>HRTV</i> | Virus Heartland |
| <i>HT</i> | Holociclotoxina |
| <i>ICA</i> | Instituto Colombiano Agropecuario |
| <i>IAG</i> | Índice de abundancia de garrapatas en vegetación |
| <i>KCl</i> | Cloruro de potasio |
| <i>MADR</i> | Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural |
| <i>MinAmbiente</i> | Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible |
| <i>MIP</i> | Manejo integrado para el control de plagas |
| <i>Mix</i> | Mezcla de compuestos |
| <i>MgCl</i> | Cloruro de magnesio |
| <i>n</i> | Número de muestras |
| <i>N</i> | Número total de la población |
| <i>NCVE</i> | Nombres Científicos Válidos para las Especies |
| <i>pb</i> | Pares de base |
| <i>PBA</i> | Proyecto Bovino Arauca |
| <i>PBS</i> | Solución Salina Tamponada con Fosfato |
| <i>PCR</i> | Reacción en Cadena de la Polimerasa |
| <i>PIB</i> | Producto Interno Bruto |
| <i>pH</i> | Potencial de Hidrógeno |
| <i>PNN</i> | Parque Nacional Natural |
| <i>RFLP</i> | Polimorfismo de la Longitud del Fragmento de Restricción |
| <i>s.l.</i> | Sensu lato |
| <i>SPSS</i> | Statistical Package for the Social Science |
| <i>TAE</i> | Solución TRIS Ácido Acético EDTA |
| <i>Taq</i> | <i>Thermus aquaticus</i> |
| <i>UN</i> | Universidad Nacional de Colombia |
| <i>USP</i> | Universidad de São Paulo |
| <i>USD</i> | Código internacional del dólar de EE. UU |
| <i>UV</i> | Ultravioleta |
| <i>Vol</i> | Volumen |
| <i>°C</i> | Grados Celsius |
| $\bar{}$ | Promedio |

Introducción

Las garrapatas son uno de los vectores de una variedad de patógenos, que causan enfermedades infecciosas más importantes del mundo. Son artrópodos hematófagos que transmiten una importante variedad de patógenos, incluidos bacterias, nematodos, protozoarios y virus (de la Fuente *et al.*, 2017; Estrada-Peña, 2015). En la actualidad, la incidencia de las enfermedades provocadas por los microorganismos patógenos transmitidos por las garrapatas está aumentando en diferentes países debido a los cambios y a la variabilidad climática, así como, a los escenarios de globalización, representando amenazas para la salud pública y animal en todo el mundo (Dantas-Torres *et al.*, 2012).

La presente investigación se desarrolló como uno de los requisitos parciales para obtener el título de Magister en Salud Animal, de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá y se titula “Identificación y caracterización de garrapatas presentes en bovinos de las dos subregiones del departamento de Arauca, Colombia: Implicaciones como vector”. Este documento se encuentra estructurado de acuerdo a los requerimientos establecidos por la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia. Iniciando con un capítulo de revisión actualizada del estado del arte de las garrapatas y por tres capítulos adicionales en los cuales se describen la identificación y caracterización de las garrapatas del departamento de Arauca, así, como la determinación del grado de resistencia a acaricidas, factores de riesgo a infestación de garrapatas, identificación de patógenos transmitidos por garrapatas y formulación de estrategias de control para las garrapatas aplicables a las condiciones ambientales y ecológicas del departamento de Arauca.

Citación recomendada

Rodríguez-Durán, Arlex., 2019. Identificación y caracterización de garrapatas presentes en bovinos de las dos subregiones del departamento de Arauca,

Colombia: Implicaciones como vector. [Tesis de Maestría]. [Bogotá D.C. Colombia].
UNAL. pp. 132.

1. Las garrapatas: verdadera limitante de los sistemas de producción bovina del trópico y subtrópico

1.1 Generalidades de las garrapatas

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos obligados, que parasitan prácticamente todos los vertebrados terrestres, principalmente mamíferos (incluido el hombre), aves, reptiles y algunos anfibios (Brisola, 2011). Aunque han sido considerados parásitos cosmopolitas, numerosas especies están restringidas a hábitats específicos, especialmente en las regiones tropicales y subtropicales (Narasimhan y Fikrig, 2015). Estos parásitos son considerados como un factor limitante de relevancia en los sistemas de producción bovina, no solo por los daños directos que ocasionan, sino por la capacidad de transmisión de gran cantidad de microorganismos que causan enfermedades a sus hospedadores (Wall y Shearer, 2001).

1.1.1 Clasificación taxonómica y morfología de las garrapatas

En todo el mundo, se han descrito cerca de 939 NCVE de garrapatas, agrupadas en tres familias (Rivera-Páez *et al.*, 2018). La familia Ixodidae, conocidas como “garrapatas duras” presenta 727 NCVE en seis subfamilias (Nava *et al.*, 2017). La familia Argasidae, conocidas como “garrapatas blandas” agrupa 211 NCVE en dos subfamilias (Nava *et al.*, 2017; Guo *et al.*, 2017; Barker y Murrel, 2008) y la familia Nuttalliellidae presenta 1 NCVE en una subfamilia (Mans *et al.*, 2011). *Nuttalliella namaqua*, es la única especie de la familia Nuttalliellidae. Es una garrapata monofilética y comparte características biológicas y morfológicas con algunas especies de las familias Ixodidae y Argasidae, así, como caracteres únicos (Bendjeddou *et al.*, 2017; Mans *et al.*, 2014).

En la actualidad, las herramientas moleculares han permitido grandes avances científicos y tecnológicos en el entendimiento de las relaciones filogenéticas de las

garrapatas. No obstante, no existe consenso sobre los cambios propuestos en la sistemática de garrapatas, por lo que algunas reubicaciones taxonómicas no son completamente aceptadas. En este sentido, los especialistas hacen uso de varios caracteres comprendiendo forma (morfología) y función (aspectos como la biología, ecología y comportamiento) (Labruna *et al.*, 2016).

Las garrapatas de la familia Ixodidae presentan un tamaño promedio entre 1 a 20 mm de longitud, poseen un escudo dorsal completo en el caso de los machos e incompleto en las hembras (Parra *et al.*, 1999; Strickland *et al.*, 1976). Su cuerpo es de forma oval, aplanadas dorso-ventralmente en estado de ayuno y las hembras globosas cuando están pletóricas (teleoginas). Para los machos solo se experimenta un ligero aumento de tamaño durante su alimentación; el cefalotórax se encuentra fusionado, dividido en dos secciones: el gnathosoma que está compuesto por un hipostoma dentado, un par de quelíceros en la parte posterior del hipostoma, dos palpos, con cuatro segmentos (Brisola, 2011; Borchert, 1981). La segunda parte del cuerpo, el idiosoma, es donde se insertan las patas, que constan de ocho artejos, el poro anal y genital, dos estígmato, donde se lleva a cabo la respiración de los adultos; un par de ojos, escudo, pelos sensoriales, cerdas, glándulas dérmicas y las sensilas de la cutícula (Sonenshine, 1991).

Las garrapatas duras tienen tres estadios, larva, ninfa y adulto. Los estadios de larva son hexápodos, las ninfas y los adultos son octópodos, este último estadio de vida se caracterizan por presentar dimorfismo sexual (Nicholson *et al.*, 2009). Los estadios de larvas no presentan diferenciación sexual. Los machos y las hembras presentan una abertura genital o gonoporo. Las garrapatas de las familias Argasidae y Nuttalliellidae, cuentan con un cuerpo blando, áspero y rugoso; ausencia de escudo, el gnathosoma es visible ventralmente en las ninfas y adultos; estas últimas por su parte no poseen dimorfismo sexual (Urquhart *et al.*, 2001).

1.1.2 Ciclo de vida y ecología

La fase no parasítica es el estado de vida en la cual la garrapata se encuentra en el ambiente y realiza los procesos de pre-oviposición, oviposición, incubación, eclosión y supervivencia larvaria, hasta encontrar un hospedador (Parra *et al.*, 1999). En esta fase, el tiempo de desarrollo está fuertemente influenciado por factores ambientales como el clima y la vegetación (Cordero del Campillo *et al.*, 1999). Mastropaolo *et al.* (2017) investigaron sobre la ecología de *Rh. (B.) microplus* en Argentina, donde observaron que la muerte de las hembras era más prolongada a mediados y finales de la temporada de verano, sin embargo, las larvas en esta temporada presentaban menor longevidad. Las condiciones climáticas como la temperatura, humedad, incidencia de los rayos solares y precipitación disminuyen la búsqueda de hospedadores (Brisola, 2011).

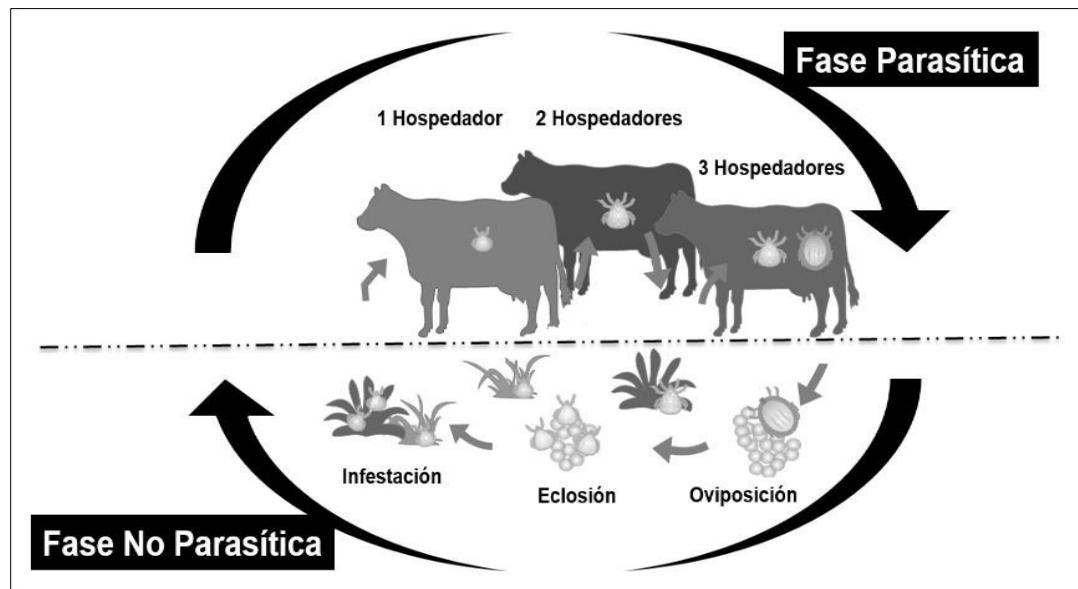
Gran parte del conocimiento sobre la ecología se generó en Australia, de allí se extrapoló y se aplicaron estudios en países de América y África (Sutherst y Bourne, 2006). Para Colombia, los estudios más relevantes se desarrollaron durante las décadas 80 y 90 (Betancourt *et al.*, 1999). En 2011, Cortés-Vecino registró por primera vez la presencia de esta especie a una altitud superior a los 2.903 msnm, comportamiento ecológico nunca observado. Por su parte Pulido-Herrera *et al.* (2015), en estudios de la región del altiplano del departamento de Boyaca, registraron que la cobertura arbórea, como los mosaicos compuestos por pastos, cultivos y/o bosques son un atributo que favorecen el desarrollo de estados de vida libre de *R. (B.) microplus*, ya que permite mantener condiciones favorables de humedad, temperatura y protección para estos estados, junto a la presencia del ganado en la región, puede contribuir al éxito del desarrollo de esta garrapata.

La hembra puede ovopositar entre 2.500 a 5.000 huevos hasta morir (Estrada-Peña, 2015). Una hembra de Ixodidae no tiene más que un solo ciclo gonotrófico, mientras que las Argasidae producen solo unos cientos de huevos tras cada

alimentación, son capaces de realizar varios ciclos de alimentación y de reproducción (Anderson y Magnarelli, 2008). Los huevos eclosionan y las larvas buscan llegar a lo más alto de las gramíneas o arvenses, en donde esperarán adherirse a un hospedador, sobre el cual se alimentarán para mudar a la fase de ninfa, siempre dependiendo del ambiente y de los hospedadores, para finalmente pasar a la fase adulta.

La fase parasítica es el estado de vida en la cual la garrapata realiza el proceso de hematofagia en el hospedador. La duración de esta fase es variable, con un tiempo promedio aproximado de 23 días (Núñez *et al.*, 1982). Durante el paso de un estadio a otro, las garrapatas ingieren sangre en numerosas ocasiones, entre las que se alterna largos periodos de vida libre y diferentes hospedadores, los cuales pueden ser hasta tres animales de la misma especie. La hembra se alimentará durante 10 a 14 días, luego caerá al suelo, en donde realizará el proceso de oviposición (Barker y Murrel, 2008) (Figura 1-1). Sin embargo, el ciclo ecológico para algunas especies de la subfamilia Amblyominae pueden ser hasta de dos años, de acuerdo López y Parra (2017) han observado en climas medios en el departamento de Antioquia la supervivencia de estas especies del género *Amblyomma*; las cuales pueden permanecer viables hasta por 10 años (López y Parra, 2017). También, es importante anotar, que la descripción de esta fase de vida es para las especies de la familia Ixodidae. Así mismo, para Colombia no se registran garrapatas de dos hospedadores (Cortés-Vecino *et al.*, 2011; Betancourt *et al.*, 1999; López, 1980).

Figura 1 - 1. Ciclos de vida de la familia Ixodidae de uno, dos y tres hospedadores



Adaptado de Barker y Murrell (2008); Parra *et al.* (1999)

El ciclo de vida de la familia Argasidae varía de acuerdo a los individuos de la misma especie, así como, entre las especies de la familia (Diyes y Rajakaruna, 2017). Un ciclo de vida típico implica cuatro etapas de desarrollo, huevo, larva, ninfa y adulto (macho o hembra) (Estrada-Peña, 2015). Presenta de dos a cinco estadios ninfales y de adultos, dos ciclos más comparadas con la familia Ixodidae (Basu y Sharles, 2017). El proceso de oviposición se da después de cada alimentación, período conocido como ciclo gonotrófico. Las hembras pueden ovopositar entre 100 a 500 huevos, durante una hora en climas que son controlados (Nicholson *et al.*, 2009).

1.1.3 Patogenia y transmisión de microorganismos

La patogenia de las garrapatas inicia a la hora de la hematofagía, en donde la saliva de la garrapata interrumpe las defensas del huésped a través de una mezcla

compleja de moléculas como inhibidores de la serina proteasa y lipocaínas, impidiendo la coagulación sanguínea, agregación plaquetaria y la vasoconstricción (Chmelaret *et al.*, 2016). Son diferentes los factores que permiten la transmisión de microorganismo por parte de las garrapatas, tales como: 1. La variedad de hospedadores y la ingesta de grandes volúmenes de sangre permiten el intercambio de patógenos entre las garrapatas y el hospedador (Woolley *et al.*, 2017). 2. La capacidad de mantener los patógenos en la naturaleza mediante la transmisión transovárica y la transmisión transestadial (Young y Morzaria, 1986). 3. El cambio y la variedad climática pueden tener impacto sobre los ciclos de vida, ecología, ocurrencia y abundancia de las garrapatas y microorganismos (Ogden *et al.*, 2016) y 4. La globalización han favorecido la propagación de las garrapatas y han aumentado la incidencia de la transmisión de patógenos en lugares no endémicos (Petzke y Schwartz, 2015).

Las garrapatas son vectores de bacterias como *Borrelia burgdorferi* s.l. grupo de bacterias compuestas por 20 genopecies, con amplia distribución mundial y asociadas a la familia Ixodidae (Flores *et al.*, 2016). En condiciones naturales *B. burgdorferi* s.l. se mantiene mediante complejos ciclos enzoóticos (Margos *et al.*, 2014). Otra bacteria de interés en Medicina es *Francisella tularensis*, descrita en ocasiones en EE-UU y relevante por su capacidad de causar zoonosis (Sjöstedt, 2005). También, se encuentra *Coxiella burnetii*, la cual es similar a las rickettsias, pero con diferencias genéticas y reproductivas (Eldin *et al.*, 2017). Más de 40 especies de las familias Ixodidae y Argasidae albergan este patógeno (Sumrande *et al.*, 2016). Entre tanto, en Colombia, se ha registrado su presencia en seres humanos (Betancur y Muñera, 2012).

Así mismo, las rickettsiosis son transmitidas por las garrapatas. La infección puede ocurrir a través de una transmisión transestadial y transovárica (Dias *et al.*, 2018). En Colombia, el primer brote de rickettsiosis fue en 1934 (Patiño-Camargo *et al.*, 1937). Recientemente, Faccini-Martínez *et al.* (2016), aislaron *R. rickettsii* y *R. amblyommii* identificadas en *A. patinoi* en Cundinamarca. También, pueden

transmitir *Anaplasma marginale*, *A. centrale*, *A. ovis* y *A. phagocytophilum*, esta última con alto interés en la salud humana, por su capacidad de zoonosis (Pascoe *et al.*, 2019). En todo el mundo son transmitidas por 20 especies de garrapatas (Kumar *et al.*, 2016). Se han registrado seroprevalencia de *A. marginale* hasta del 72,6% en el ganado bovino (Okafor *et al.*, 2018).

Entre los protozoarios que transmiten y causan un gran impacto negativo en la ganadería bovina se encuentran *Babesia bovis* y *B. bigemina*. Las cuales son transmitidas en el momento de la hematofagia a los bovinos (vertebrados en general) y las garrapatas mediante una infección transovárica (Friedhoff, 1990). Para Colombia, *Rh. (B.) microplus* es el vector biológico para las dos especies (Mateus, 1990). Por otro lado, se ha implicado a las garrapatas en la transmisión de nematodos, tipo filarias, de acuerdo a Henning *et al.* (2016), observaron ADN de *Monanema* spp. en *A. americanum* y *Cercophitofilaria baina* en *Rh. sanguineus* (Bezerra *et al.*, 2017).

Entre los virus que pueden transmitir las garrapatas se encuentran HRTV (Orthobunyavirus, Nairovirus y Phlebovirus) (Schmaljohn *et al.*, 2007). Investigaciones realizadas por Savage *et al.* (2013), identificaron la secuenciación proteica de HRTV, siendo positivas para las especies *A. americanum*. También, Godsey *et al.* (2016), detectaron HRTV en un grupo de ninfas y larvas no infectadas de *A. americanum*, observando una transmisión vertical en la progenie de las hembras infectadas. Por su parte, de Figueredo *et al.* (2017) describieron el virus Cacipacoré (CPCV) en *A. cajennense* s.l. Recientemente, de Oliveira *et al.* (2019), demostraron la presencia del virus Jingmrn, perteneciente al grupo Jingmenvirus, el cual fue aislado de *Rh. (B.) microplus*.

No menos importante para la epidemiología de la ganadería colombiana se encuentra la transmisión de toxinas, a través de la hematofagia. Rodríguez-Valle *et al.* (2018), demostraron la presencia de HT en la especie *I. holocyclus*, señalando que estas toxinas inhibían enzimas como la proteasa, metaloproteasa, proteínas

ricas en glicina y lipocalinas, lo que impediría la regulación de la afluencia de sangre del huésped durante la hematofagia, por lo cual las HT tienen un efecto neurotóxico inducido por su interacción directa con las células del sistema nervioso del hospedador.

1.1.4 Importancia económica y sanitaria de las garrapatas

La prevalencia de patógenos transmitidos por las garrapatas ha aumentado en la actualidad debido a diversos factores bióticos y abióticos (Martina *et al.*, 2017). Según, Harwood y James (1987), los factores que explican el grado de diseminación de las enfermedades, es debido a que las garrapatas son hematófagos persistentes y de alimentación lenta, proporcionando suficiente tiempo para la transferencia de patógenos al hospedador. Otro factor es la longevidad, particularmente en las especies de la familia Argasidae. Así como, el potencial de reproducción, ya que algunas especies pueden ovipositar hasta 18.000 huevos y en ocasiones ocurre la partenogénesis. Aunado, al número reducido de enemigos naturales, permiten aumentar la proliferación de las garrapatas en algunas regiones del mundo (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

Las pérdidas económicas son ocasionadas por los efectos directos, a través de la extracción de altos volúmenes de sangre, hasta 15 μ L de sangre/promedio/ciclo garrapata (McCoy *et al.*, 2010). Pérdida que conlleva a la reducción del peso vivo, apetito, reducción de glóbulos rojos, depresión de la función inmune, desequilibrio en la frecuencia respiratoria, estrés e irritación general en el hospedador (Pekáriková *et al.*, 2015) y efectos indirectos como vectores de enfermedades que reducen la tasa de crecimiento, problemas de fertilidad, disminución de la producción de leche, hasta de 8.9 mL de leche/día/ciclo garrapata (Jonsson, 2006), carne entre 0.3 a 1 gr de carne/ciclo garrapata (Guglielmone y Mangold, 2007), depreciación del valor de las pieles entre un 20% a 30% (Biswas, 2003) y heridas abiertas que conducen a infecciones secundarias (Sajid *et al.*, 2017).

Las infestaciones por garrapatas y el costo para controlarlas representan pérdidas económicas a nivel mundial para la ganadería bovina entre USD \$ 22 a 30 billones por año (Lew-Tabor y Rodríguez, 2016). Solo para *Rh. (B.) microplus* se han calculado pérdidas en Australia de USD \$ 62 millones por año, en India de USD \$ 498,7 millones por año (Singh *et al.*, 2014), en México de USD \$ 573,6 millones por año (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2017), en Brasil de USD \$ 3,236 millones por año (Grisi *et al.*, 2014; Rodrigues y Leite, 2013). Para Colombia, la estimación que todavía se considera más aproximada es la proyectada por la FAO (1984a), la cual indica una pérdida de USD \$ 7,3 dólares por cabeza por año. Si se asume que en Colombia la población bovina es de 26,4 millones de cabezas (ICA, 2018) y que el 87% está localizada en zonas influenciadas por *Rh. (B.) microplus*, serían por el orden de los USD \$ 192,7 millones por año.

1.2 Departamento de Arauca

El área de estudio fue el departamento de Arauca, el cual se encuentra situado en el nordeste de Colombia (06° 02` 40" y 07° 06` 13" de latitud norte). Cuenta con una superficie de 23.818 km² y está dividido en siete municipios: Arauca (ciudad capital), Arauquita, Cravo Norte, Fortul, Puerto Rondón, Saravena y Tame (Figura 2-2). La economía se basa principalmente de la explotación petrolera, la ganadería, la agricultura, servicios y el comercio. En el territorio se encuentran dos ecosistemas estratégicos y protegidos ambientalmente por la nación, el PNN El Cocuy en el municipio de Tame y el DNMI de los recursos naturales renovables de las sabanas inundables del Cinaruco, ubicado entre los municipios de Arauca y Cravo Norte (MinAmbiente, 2018). La fisiografía está constituida por dos subregiones propias de la Orinoquia colombiana, como el Piedemonte Llanero y la Sabana Inundable (Gobernación de Arauca, 2011).

La subregión del Piedemonte Llanero (municipios de Arauquita, Fortul, Saravena y Tame), se ubica en las últimas estribaciones de la cordillera Oriental de Colombia.

Presenta una vegetación de bosques semidecíduos y decíduos de mediana y baja altura, mezclados con sábanas y bosques de galería (Caro-Caro *et al.*, 2014). Las precipitaciones en esta subregión son en promedio multianual de 2.021 mm, con una media mensual de 168 mm. El régimen de precipitación se considera como unimodal-biestacional, siendo el mes de junio en el cual se presenta una media de 1.010 mm y el mes de enero es el mes más seco con 39 mm. El promedio mensual de la temperatura es de 26 °C, el promedio de la humedad es 79% y la altitud promedio es de 335 msnm (Rangel-Ch *et al.*, 2017). En los cuatro municipios se encuentran 8.227 (81%) predios que se dedican a la producción de ganado bovino, en donde se registran 681.256 cabezas de animales (ICA, 2018), en las tipologías productivas de ceba (9,4%), cría (4,6%), doble propósito (46,8%) y lechería tropical (4,9%) (PBA, 2014).

Entre tanto, la subregión de Sabana Inundable (municipios de Arauca, Cravo Norte y Puerto Rondón), la fisiografía está compuesta por una topografía plana, con áreas abiertas y con humedales cubiertos de vegetación (Pinzón *et al.*, 2017). El periodo lluvioso varía, siendo el mes de julio el de mayor precipitación, con un promedio de 1.441 mm y el mes de enero el más seco con 15 mm. El promedio mensual de la temperatura es de 26.9 °C. El mes de marzo alcanzan los valores más elevados con un valor de 28.6 °C. El promedio de la humedad relativa es del 90% y la altitud promedio es de 120 msnm (Rangel-Ch *et al.*, 2017). En los tres municipios se encuentran 1.920 (18,9%) predios que se dedican a la producción de la ganadería bovina, en los cuales se registran 480.776 cabezas de animales (ICA, 2018), en las tipologías productivas de ceba (5,1%), cría (64,1%) y doble propósito (30,7%) (PBA, 2014).

El inventario bovino del departamento es de 1.162.032 cabezas de animales. Tiene el 4,4% de la población bovina y ocupa el 12 lugar con mayor número animales en el país (ICA, 2018). La tipología productiva de mayor distribución es la de doble propósito (57,3%) y las razas mestizas con Cebú comercial son las de mayor presencia en el departamento (72,3%) (PBA, 2014). Dentro de las gramíneas

introducidas en las fincas ganaderas se destaca *Brachiaria humidicola* (68,8%) y gramíneas nativas como *Axonopus purpusi* y *Leersia hexandra* que tiene alta tolerancia a los niveles de agua, pero ausente durante la época de verano (Sossa *et al.*, 2016). La producción ganadera, es la actividad económica de mayor presencia en la ruralidad del departamento de Arauca, aportando el 17% del PIB, por lo cual es este el principal sector económico tradicional y permanente del departamento (DANE, 2016). Con una producción de leche en el primer semestre del año 2018 de 303.000 lts/promedio/día (MADR, 2018) y un inventario bovino orientado a la producción de carne de 408.000 cabezas de animales (ICA, 2018).

En el departamento de Arauca, investigaciones realizadas por Rivera-Páez *et al.* (2017); Parra *et al.* (1999) y Onofre *et al.* (1997) reportan la presencia de garrapatas en fincas ubicadas en los municipios de Arauca, Cravo Norte y Puerto Rondón. No obstante, la descripción de los hospedadores y las especies de garrapatas no están definidos para los bovinos. Tales estudios son limitados para determinar la identificación, caracterización, epidemiología y control de las especies que infestan el ganado bovino de esta región del país, siendo necesario ampliar los estudios específicos para estos ectoparásitos.

1.3 Bibliografía

Anderson, J., Magnarelli, L., 2008. Biology of ticks. Medical Clinics of North America 22, 195-215.

Barker, S., Murrell, A., 2008. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. In: Bowman, A., Nutall, P. Editors. Ticks: biology, disease and control. Cambridge: Cambridge University Press. pp. 1-39.

Basu, A., Charles, R., 2017. Ticks of Trinidad and Tobago: An Overview. Academic Press. pp. 33-106.

Bendjeddou, M., Loumassine, H., Scheffler, I., Bouslama, Z., Amr, Z., 2017. Bat ectoparasites (Nycteribiidae, Streblidae, Siphonaptera, Heteroptera, Mesostigmata, Argasidae, and Ixodidae) from Algeria. Journal of Vector Ecology 42, 13-23.

Betancur, C., Muñera, A., 2012. Endocarditis por *Coxiella burnetii*: fiebre Q. Acta Med. Colomb. 37(1), 31-33.

Betancourt, J.A., Cassalet, E., Escobar, A., Uribe, L., 1999. Experiencias con mezclas de compuestos garrapaticidas: susceptibilidad y alternativas de control de las garrapatas. Agricultura de las Américas. Primera entrega. 272, 31-34.

Bezerra, M., Barbosa, I., Oliveira, L., Nascimento, C., Oliveira, A., Câmara, L., Carvalho, A., 2017. *Cercopithifilaria binae* in *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato ticks from dogs in Brazil. Ticks and Tick-borne Diseases 8(4), 623-625. doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.04.007

Biswas, S., 2003. Role of veterinarians in the care and management during harvest of skin in livestock species Proc. National Seminar on Leather Industry in Today's Perspective, Kolkata, India. pp. 62-64.

Borchert, A., 1981. Parasitología veterinaria. Tipo Articulata, Orden: Acari. Editorial Acribia. pp. 433-442.

Brisola, C., 2011. Ácaros (Garrapatas e Outros). En: Entomología médica e veterinaria. Editorial Athenen. pp. 263-315.

Caro-Caro, C., Torres-Mora, M., Barajas-Barbosa, M., 2014. Ecosistemas estratégicos y disponibilidad de hábitat de la avifauna del Piedemonte Llanero (Colombia), como posible peligro aviar. Luna Azul 39, 25-39. doi.10.17151/luaz.2015.41.19

Cortés-Vecino, J.A., 2011. Bioecología, distribución y comportamiento de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) en el Altiplano Cundiboyacense, Colombia. [Tesis de Doctorado]. [Bogotá D.C. Colombia]. UNAL. pp. 359.

Cordero del Campillo, M., Rojo, F., 1999. Parasitología Veterinaria. Parasitosis cutáneas y afines, Elsevier, España. Cap. 24. pp. 400-447.

Chmelar, J., Kotál, J., Kopecký, J., Pedra, J., Kotsyfakis, M., 2016. All for one and one for all on the tick-host battlefield. Trends in Parasitology 32, 368-377. doi.org/10.1016/j.pt.2016.01.004

Dantas-Torres, F., Chomel, B., Otranto, D., 2012. Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. Trends in Parasitology 28, 437-446.

DANE. Departamento Administrativo Nacional de Estadística., 2016. Informe de coyuntura económica regional. Departamento de Arauca. pp. 18-80 https://www.dane.gov.co/files/icer/2015/ICER_Arauca2015.pdf

de Figueiredo, G., Amarilla, A. de Souza, A., Fumagalli, M., de Figueiredo, M., Szabó, M., Badra, S., 2017. Genetic characterization of *Cacipacoré virus* from ticks collected in São Paulo State, Brazil. *Archives of Virology*. pp. 162. doi.1783-1786.10.1007/s00705-017-3279-3

de Oliveira, J., de Siqueira, S., da Costa, R., Szabó, M., Yokosawa, Y., 2019. Detection and molecular characterization of Mogiana tick virus (MGTV) in *Rhipicephalus microplus* collected from cattle in a savannah area, Uberlândia, Brazil. *Ticks and Tick-borne Diseases* 10(1), 162-165. doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.10.002.

Dias, M., Cordeiro, B., Azevedo, P., Cepeda, B., Teixeira, R., Dias, C., Ribeiro, U., Rodrigues, J., Pinter, V., Fosenca, E., 2018. Experimental infection of *Rickettsia parkeri* in the *Rhipicephalus microplus* tick. *Ticks and Tick-borne Diseases* 9(1), 93-96.

Diyes, G., Rajakaruna, R., 2017. Life cycle of spinose ear tick, *Otobius megnini* (Acari: Argasidae) infesting the race horses in Nuwara Eliya, Sri Lanka. *Acta Trópica* 166, 164-176.

Eldin, C., Mélenotte, C., Mediannikov, O., Ghigo, E., Million, M., Mege, J., Raoult, D., 2017. From Q fever to *Coxiella burnetii* infection: a paradigm change. *Clinical Microbiology Review* 30(1), 115-190.

Estrada-Peña, A., 2015. Orden Ixodida: Las garrapatas. *Revista IDE@-SEA* 13, 2-15.

Faccini-Martínez, Á., Ramírez-Hernández, A., Forero-Becerra, E., Cortés-Vecino, J.A., Escandón, P., Rodas, J., Palomar, A., Portillo, A., Oteo, J., Hidalgo, M., 2016. Molecular evidence of different *Rickettsia* species in Villeta, Colombia. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 16, 85-87.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations., 1984a. Tick and tick borne diseases control: A practical field manual. Roma. pp. 210-297.

Friedhoff, K., 1990. Interaction between parasite and tick vector. *International Journal of Parasitology* 20(4), 525-535.

Flores, F., Costa, F., Nava, S., Diaz, L., Labruna, M., 2016. Rickettsial infection in ticks infesting wild birds from two eco-regions of Argentina. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 25, 378-382.

Gobernación de Arauca., 2011. Investigación para la caracterización y localización de las poblaciones naturales de Chigüiros (*Hydrochoerus hydrochaeris*) del departamento de Arauca. Informe técnico. Gobernación de Arauca, Colombia. pp. 17-45.

Godsey, M., Savage, H., Burkhalter, K., Bosco-Lauth, A., Delorey, M., 2016. Transmission of Hertland virus (Bunyaviridae: Phlebovirus) by experimentally infected *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae). Journal of Medical Entomology 16, 8-87.

Guglielmone, A., Mangold, A., 2007. Garrapata Común de los bovinos. INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria), Santa Fé. pp. 15-19.

Guglielmone, A., Robbins, R., Apanaskevich, D., Petney, T., Estrada-Peña, A., Horak, I., 2014. The hard ticks of the world (Acari: Ixodida: Ixodidae) Springer, Dordrecht, Heidelberg, Nueva York, Londres. pp. 556-738.

Guo, T., Sun, Y., Xu, G., Durden, L., 2017. *Ixodes kangdingensis* (Acari: Ixodidae), a new species from the Siberian weasel, *Mustela sibirica* (Carnivora: Mustelidae) in China. Parasitology Open 3, 10-11.

Grisi, L., Leite, R., Martins, J., Barros, A., Andreotti, R., Cancado, P., 2014. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. Brazilian Journal of Veterinary Parasitology 23(2), 150-156.

Henning, T., Orr, J., Smith, J., Aras, J., Rasgonc, J., Norris, D., 2016. Discovery of filarial nematode DNA in *Amblyomma americanum* in Northern Virginia. Ticks and Tick-borne Diseases 7(2), 315-318.

Harwood, R., James, M., 1987. Garrapatas y enfermedades asociadas con ellas. Capítulo 16. En: Entomología Médica y Veterinaria. Limusa, México. pp. 429-483.

ICA. Instituto Colombiano Agropecuario., 2018. Censo pecuario nacional 2018. Inventario bovino en Colombia. ICA. pp. 2-3.

Jonsson, N., 2006. The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses: Review. Veterinary Parasitology 137, 1-10.

Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K., 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. Molecular Biology and Evolution 33(7), 1870-1874.

Labruna, M., Nava, S., Marcili, A., Barbieri, A., Nunes, P., Horta, H., Venzal, J., 2016. A new argasid tick species (Acari: Argasidae) associated with the rock cavy, *Kerodon rupestris* wied-neuwied (Rodentia: caviidae), in a semiarid region of Brazil Parasites & Vectors 9, 5-11.

Lew-Tabor, A., Rodríguez, M., 2016. A review of reverse vaccinology approaches for the development of vaccines against tick and tick borne diseases. Tick and Tick-borne Diseases 7(4), 573-585. doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.12012

López, G., 1980. Ectoparásitos del ganado bovino. Rev. Col. de Cienc. Pec. 3(10), 47-56.

López, G., Parra, G.J., 2017. Parásitos externos de importancia en medicina veterinaria. Editorial CES. pp. 127-216.

Mastropaolo, M., Mangold, A., Guglielmone, A., Nava, S., 2017. Ciclo de vida no parasitario de la garrapata del ganado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en los pastos de *Panicum maximum* en el norte de Argentina. Investigación en Ciencias Veterinarias 115, 138-145.

MADR. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural., 2018. USP. Unidad de seguimiento de precios. Acopio mensual de leche por la industria formal al sector primario (2017-2018). pp. 1-2.

Mans, B., de Klerk, D., Pienaar, R., Latif, A., 2011. *Nuttalliella namaqua*: a living fossil and closest relative to the ancestral tick lineage: implications for the evolution of blood-feeding in ticks. PLoS One 6, 23-75.

Margos, G., Piesman, J., Lane, R., Ogden, N., Sing, A., Straubinger, R., Fingerle, V., 2014. *Borrelia kurtenbachii* sp., a widely distributed member of the *Borrelia burgdorferi* sensu lato species complex in North America. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 64, 128-130.

Martina, B., Barzon, L., Pijlman, G., de la Fuente, J., Rizzoli, A., Wammes, L., Takken, W., van Rij, R., Papa, A., 2017. Human to human transmission of arthropod-borne pathogens. Current Opinion in Virology 22, 13-21. doi.org/10.1016/j.coviro.2016.11.005

Mateus, G., 1990. Epidemiología de la babesiosis bovina. Seminario internacional sobre: diagnóstico, epidemiología y control de enfermedades hemoparasitarias. pp. 16-67.

MinAmbiente. Ministerio de Medio Ambiente., 2018. Distrito Nacional de Manejo Integrado Cinaruco. Parque Nacional Natural de Colombia PPN. pp. 4-9.

Molaei, M., Little, E., 2018. A nine-legged tick: Report of a morphological anomaly in the blacklegged tick, *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) from the northeastern United States. *Ticks and Tick-borne Diseases* 9, 778-780.

McCoy, B., Raffel, S., López, J., Schwan, T., 2010. Bloodmeal size and spirochete acquisition of *Ornithodoros hermsi* (Acari: Argasidae) during feeding. *Journal of Medical Entomology* 47(6), 1164-1172.

Narasimahan, S., Fikrig, E., 2015. Tick microbiome: the force within. *Trends in Parasitology* 31, 315-323. doi.10.1016/j.pt.2015.03.010

Nava, S., Venzal, J., González-Acuña, D., Martins, T., Guglielmone, A., 2017. Ticks of the Southern Cone of America: Diagnosis, distribution, and hosts with taxonomy, ecology and sanitary importance (1st ed.), Elsevier, London, San Diego, Cambridge. pp. 375.

Nicholson, W., Sonenshine, D., Lane, R., Uilenberg, G., 2009. Ticks (Ixodida). In: Mullen, G., Durden, L. Editors. *Medical and Veterinary Entomology*. Academic Press. pp. 493-542.

Núñez, J., Cobeñas, M., Muñoz, H., 1982. *Boophilus microplus*: la garrapata común del ganado vacuno Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina. pp. 184-190.

Ogden, N., Lindsay, L., 2016. Effects of climate and climate change on vectors and vector-borne diseases: ticks are different. *Trends in Parasitology* 32, 646-656. doi.org/10.1016/j.pt.2016.04.015

Okafor, C., Collins, S., Daniel, J., Harvey, B., Sun, X., Coetze, J., Whitlock, B., 2018. Factors associated with Seroprevalence of *Anaplasma marginale* in Kentucky cattle. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports* 13, 212-219. doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.07.003

Onofre, H., Parra, J., Villar, C., Acevedo, L., Holguín, E., 1997. Dinámica poblacional del parasitismo gastrointestinal y pulmonar y variables hemáticas de terneros del departamento de Arauca. CRI La Libertad. Corpoica. En: Curso de producción bovina. Tame, Colombia. pp. 74-82.

Pascoe, E., Stephenson, N., Abigana, A., Clifford, D., Gabriel, M., Brown, R., 2019. Human seroprevalence of Tick-Borne *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, and *Rickettsia* species in Northern California. *Vector-Borne and Zoonotic Disease*. 234-242. doi. 10.1089/vbz.2019.2489.

Parra, M., Peláez, L., Segura, F., Arcos, J., Londoño, J., Díaz, E., Vanegas, M., 1999. Manejo integrado de garrapatas en bovinos. Corpoica-PLANT-SENA. pp. 80.

Patiño-Camargo, L., Afanador, A., Paul, J., 1937. A spotted fever in Tobia, Colombia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 17, 639-653.

Pekáriková, D., Rajská, P., Kazimírová, M., Pecháňová, O., Takáč, P., Nuttall, P., 2015. Vasoconstriction induced by salivary gland extracts from ixodid ticks. *International Journal for Parasitology* 45(14), 879-883. doi.org/10.1016/j.ijpara.2015.08.006

Petzke, M., Schwartz, I., 2015. *Borrelia burgdorferi* pathogenesis and the immune response. *Clinics in Laboratory Medicine* 35, 745-764. doi.10.1016/j.cll.2015.07.004

Pinzón, C., Rangel-Ch, J., Minorta-Cely, O., Aymard, G., 2017. Riqueza y diversidad de las plantas con flores del área de los humedales y las sabanas inundables del departamento de Arauca, Colombia. *BioLlania* 15, 470-532.

Pulido-Herrera, L., Rudas-Ll, A., Betancourt, J.A., Grant, E., Vilchez, J., 2015. Distribución inusual y potencial de la garrapata común del ganado (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) en zonas tropicales de alta montaña de los Andes colombianos. *Biota Colombiana* 16(2), 75-95.

PBA. Proyecto Bovino Arauca., 2014. Informe técnico de aplicación de encuesta de validación. En: PBA. Universidad Nacional de Colombia-Gobernación de Arauca-Gobernación del Vichada. pp. 15-132.

Rangel-Ch, J., Gopar-Merino, L., Minorta-Cely, V., 2017. Caracterización climática de las sabanas inundables y los humedales de Arauca, Colombia. *BioLlania* 15, 357-409.

Rivera-Páez, F., Labruna, M., Martins, T., Rodrigues-Sampieri, B., Camargo-Mathias, M., 2017. A case of gynandromorphism in *Amblyomma mixtum* (Acari, Ixodidae). *Revista Colombiana de Entomología* 43(2), 268-270

Rivera-Páez, F., Labruna, M., Martins, T., Perez, J., Castaño-Villa, G., Ossa-López, P., Gil, C., Rodrigues, B., Aricapa-Giraldo, H., Camargo-Mathias, M., 2018. Contributions to the knowledge of hard ticks (Acari: Ixodidae) in Colombia. *Ticks and Tick-borne Diseases* 9(1), 57-66. doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.10.008.

Rodrigues, D.S., Leite, R.C., 2013. Economic impact of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: estimate of decreased milk production on a dairy farm. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 65(5):1570-1572. doi.10.1590/S0102-09352013000500039

Rodríguez-Valle, M., Moolhuijzen, P., Barrero, R., Teng, C., Busch, G., Kabanowicz, T., Booth, M., Clark, R., Koehbach, J., Ijaz, H., Broady, K., 2018. Transcriptome and toxin family analysis of the paralysis tick, *Ixodes holocyclus*. *International Journal for Parasitology* 48(1), 71-82.

Rodríguez-Vivas, R., Grisi, L., Pérez de León, A., Silva, H., Torres-Acosta, J., Sánchez, S., Romero, D., Cruz, R., Saldiernah, F., García, D., 2017. Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. Review. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias 8(1), 61-74. doi.org/10.22319/rmcp.v8i1.4305

Sajid, M., Iqbal, Z., Shamim, A., Siddique, R., Jawad, M., Hassan, U., Rizwan, H., 2017. Distribution and abundance of ticks infesting livestock population along Karakorum from mansehra to gilgat, Pakistan. Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society 1, 81-88.

Savage, H., Godsey, M., Lambert, A., Panella, N., Burkhalter, K., Harmon, J., Lash, R., Ashley, D., Nicholson, W., 2013. First detection of heartland virus (Bunyaviridae: Phlebovirus) from field collected arthropods. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 89, 445-452.

Singh, N., Haque, M., Singh, H., Rath, S., Ghosh, S., 2014. A comparative study on cypermethrin resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and *Hyalomma anatolicum* from Punjab (India). Ticks and Tick-borne Diseases 5, 90-94.

Sonenshine, D., 1991. Biology of Ticks. New York (USA): Oxford University Press. Editor. pp. 23.

Sossa, C., Lopera, J., Preston, T., Rodríguez, D., Sánchez, A., Bothia, J., Galindo, A., Murgueitio, E., 2016. Evaluación del desempeño de razas bovinas locales y foráneas en diferentes modelos ganaderos en la sabana inundable de Arauca, Colombia. CIPAV, SAGMA. XVII. Simposio iberoamericano sobre conservación y utilización de recursos zoogenéticos. Corrientes, Argentina. pp. 13-17.

Sutherst, R., Bourne, A., 2006. The effect of desiccation and low temperature on the viability of eggs and emerging larvae of the tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini) (Ixodidae). International Journal for Parasitology 36, 193-200.

Schmaljohn, C., Nichol, S., Bunyaviridae, T., 2007. Fields Virology. En: Knipe, D., Howley, P., Editores. Quinta Edition. Philadelphia, P., Lippincott, Williams y Wilkins. pp. 1741-1789.

Sjöstedt, A., 2005. *Francisella* the proteobacteria, part Brenner, D., Staley, J., Garrity, G. Editors, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Springer, New York, N.Y. pp. 200-210.

Strickland, R., Gerrish, R., Hourrigan, J., Schubert, G., 1976. Ticks of veterinary importance. USDA, Agricultural Handbook 485. Washington, D.C. pp. 122.

Urquhart, G., Armour, J., Duncan, J., Dunn, A., Jennings, F., 2001. Parasitología Veterinaria. Entomología Veterinaria. pp. 207-217.

Wall, R., Shearer, D., 2001. The importance and diversity of arthropod ectoparasite In: Veterinary ectoparasites, biology, pathology and control. 2th. Blackwell Science. pp. 55-82.

Woolley, A., Montgomery, M., Savage, W., Achebe, M., Dunford, K., Villeda, S., Maguire, J., Marty, F., 2017. Post-babesiosis warm autoimmune hemolytic anemia. New England Journal of Medicine 376, 939-946. doi.10.1056/NEJMoa1612165

Young, A., Morzaria, S., 1986. Biology of *Babesia*. Parasitology Today 2(8), 211-218.

2. Caracterización de las garrapatas del ganado bovino presentes en las dos subregiones del departamento de Arauca, Colombia

2.1 Resumen

Para caracterizar las garrapatas en el ganado bovino del departamento de Arauca, se examinaron 694 bovinos en las dos subregiones. Entre ellos, 665 (95,8%) bovinos fueron positivos para la infestación de garrapatas. Un total de 57.021 garrapatas fueron colectadas ($n = 49.963$ parasítico y $n = 7.058$ no parasítico, colectadas mediante la técnica de arrastre). La clasificación se realizó con la ayuda de claves taxonómicas y por PCR convencional se confirmó la especie *Rh. (B.) microplus*, empleando los iniciadores GS81-GS82 y GS131-GS132 (Hernández *et al.*, 2000). Se identificaron a nivel taxonómico las especies *Rh. (B.) microplus* (96,5%), *A. cajennense* s.l. (2,5%), *Amblyomma* spp. (0,5%), *A. mixtum* (0,3%), *Rhipicephalus* spp. (0,2%), *A. dissimile* (0,002%), *Rh. sanguineus* (0,002%) y se confirmó molecularmente la presencia de *Rh. (B.) microplus*. El 46,5% de las garrapatas en estado parasítico se observaron en la raza Holstein y sus cruces ($n = 23.237/49.963$ registradas). Se demostró por primera vez la presencia del género *Amblyomma* infestando el ganado bovino en el departamento de Arauca. Al igual que otras regiones del país, la especie que prevalece en el ganado bovino de esta zona del país es *Rh. (B.) microplus*, con alta presencia durante las dos épocas climáticas. Esta investigación identifica por primera vez la abundancia y caracterización de las garrapatas que infestan a los bovinos en los siete municipios que conforman el departamento de Arauca y proporcionaron información de referencia para crear un programa de control adaptado a las condiciones ambientales y de manejo propias de esta región de Colombia.

Palabras clave: *Amblyomma*, ectoparásito, identificación, Orinoquía, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

2.2 Resumo

Para caracterizar carrapatos em bovinos no departamento de Arauca, foram examinados 694 bovinos nas duas sub-regiões. Entre eles, 665 (95,8%) bovinos foram positivos para infestação de carrapatos. Um total de 57.021 carrapatos foram coletados ($n = 49.963$ parasitas e $n = 7.058$ não-parasitas). A classificação foi feita com o auxílio de chaves taxonômicas e por PCR convencional a espécie foi confirmada *Rh. (B.) microplus*, utilizando os iniciadores GS81-GS82 e GS131-GS132 (Hernández *et al.*, 2000). As espécies foram identificadas em um nível taxonômico *Rh. (B.) microplus* (96,5%), *A. cajennense* s.l. (2,5%), *Amblyomma* spp. (0,5%), *A. mixtum* (0,3%), *Rhipicephalus* spp. (0,2%), *A. dissimile* (0,002%), *Rh. sanguineus* (0,002%) e a presença de foi confirmada molecularmente *Rh. (B.) microplus* 46,5% dos carrapatos no estado parasitário foram observados na raça Holandesa e seus cruzamentos ($n = 23.237/49.963$ registrados). Foi demonstrado pela primeira vez a presença do gênero *Amblyomma* infestando bovinos no departamento de Arauca. Como outras regiões do país, a espécie que prevalece em bovinos nessa região do país é *Rh. (B.) microplus*, com alta presença durante as duas estações climáticas. Esta pesquisa identifica pela primeira vez a abundância e caracterização dos carrapatos que infestam bovinos nos sete municípios que compõem o departamento de Arauca e forneceu informações de referência para a criação de um programa de controle adaptado às condições ambientais e de manejo deste região da Colômbia.

Palavras-chave: *Amblyomma*, ectoparasita, identificação, Orinoquia, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

2.3 Abstract

To characterize ticks in cattle from the department of Arauca, 694 cattle were examined in the two subregions. Among them, 665 (95.8%) cattle were positive for tick infestation. A total of 57,021 ticks were collected ($n = 49,963$ parasitic and $n =$

7,058 non-parasitic, collected using the drag technique). The classification was carried out with the help of taxonomic keys and the *Rh* species was confirmed by conventional PCR. *Rh. (B.) microplus*, using the primers GS81-GS82 and GS131-GS132 (Hernández *et al.*, 2000). Seven species were identified at the taxonomic level *Rh. (B.) microplus* (96.5%), *A. cajennense* s.l. (2.5%), *Amblyomma* spp. (0.5%), *A. mixtum* (0.3%), *Rhipicephalus* spp. (0.2%), *A. dissimile* (0.002%), *Rh. sanguineus* (0.002%) and the presence of was confirmed molecularly. *Rh. (B.) microplus* 46.5% of ticks in a parasitic state were observed in the Holstein breed and its crosses (n = 23,237/49,963 registered). The presence of the genus *Amblyomma* was infested for the first time infesting cattle in the department of Arauca. Like other regions of the country, the species that prevails in cattle in this area of the country is *Rh. (B.) microplus*, with high presence during the two climatic seasons. This research identifies for the first time the abundance and characterization of ticks that infest bovines in the seven municipalities that make up the department of Arauca and provided reference information to create a control program adapted to the environmental and management conditions of this Colombia region.

Keywords: *Amblyomma*, ectoparasite, identification, Orinoquía, *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*.

2.4 Introducción

Las garrapatas son los ectoparásitos más importantes del ganado bovino en áreas tropicales y subtropicales del mundo. Deterioran el crecimiento de los animales y causan lesiones graves en la piel, sin embargo, el mayor impacto se debe a la transmisión de patógenos. Las infestaciones por garrapatas y el costo para controlarlas representan pérdidas económicas a nivel mundial para la ganadería bovina entre los USD \$ 22 a \$ 30 billones por año (Lew-Tabor y Rodríguez, 2016). Para Colombia las pérdidas se calculan con las estimaciones realizadas por la FAO (1984a), en las que se presenta USD \$ 7,3 dólares por cabeza por año y teniendo

una población bovina de 26.4 millones de cabezas (ICA, 2018) las pérdidas serían por el orden de los USD \$ 192,7 millones por año. Entre tanto, para el departamento de Arauca se estiman en USD \$ 8,4 millones por año, teniendo una población bovina de 1.162.032 cabezas de animales (ICA, 2018).

La especie *Rh. (B.) microplus* es la de mayor distribución en el mundo y es considerada como el artrópodo más limitantes para los sistemas de producción pecuaria (Grisi *et al.*, 2014). La asociación específica entre los patógenos transmitidos por vectores y sus hospedadores y la identificación rápida y precisa de las garrapatas que infestan a los bovinos son de gran importancia para el control de este artrópodo (Betancourt, 1990).

El departamento de Arauca presenta todas las condiciones ambientales, fisiográficas y de hospedadores para que este artrópodo se establezca con gran facilidad. En la actualidad, no se han realizado esfuerzos para estudiar la distribución y caracterización de las poblaciones de las garrapatas que infestan al ganado bovino en esta región de Colombia. Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue caracterizar las especies de garrapatas en los siete municipios que conforman el departamento, mediante el uso de claves taxonómicas y ensayos moleculares. La información obtenida servirá como referencia para desarrollar programas eficaces de control y establecer en el futuro la identificación de patógenos que son transmitidos por este vector al ganado bovino.

2.5 Materiales y métodos

Esta investigación se realizó en los siete municipios que conforman las dos subregiones del departamento de Arauca. El tipo de estudio fue longitudinal, colectando muestras durante los años 2016 y 2017. La unidad experimental fueron los predios inscritos al PBA (2014), caracterizados en las tipologías productivas de ceba, cría y doble propósito y la unidad de muestreo fueron los bovinos presentes en los predios investigados, los cuales pertenecían a diferentes grupos raciales,

etarios y sexo. Todos los procedimientos realizados a los bovinos se siguieron bajo las normas para la experimentación con animales del Comité de Bioética de la FMVZ (CB-088-2015), así como, el consentimiento de cada uno de los propietarios para la toma de muestras a los semovientes.

2.5.1 Tamaño y selección de predios

Se investigaron los predios caracterizados por el PBA (2014) en todo el departamento, el cual presentaba una población total de $N = 597$ fincas, en las tipologías productivas de ceba ($n = 70$), cría ($n = 167$) y doble propósito ($n = 360$). Para determinar el tamaño de muestreo, se empleó la ecuación para población conocida, propuesta por Suárez (2011), arrojando un total de 63 predios a muestrear. La elección se realizó mediante una asignación aleatoria simple, con el fin de elegir al azar cada unidad experimental, por cada tipología productiva en las dos subregiones del departamento. Cada uno de los 63 predios investigados fue referenciado mediante el uso de equipos de geoposicionamiento satelital eTrex 20 (-GPS- Vista® HCx-Garmin). Los criterios de inclusión de este estudio fueron: 1. Animales presentes en las tipologías productivas de ceba, cría y doble propósito. 2. Predios que se encontrarán en las subregiones de Sabana Inundable y/o Piedemonte Llanero y 3. Selección de bovinos a los que no se les aplicarán ningún método de control para garrapatas en los 25 días pre colecta. Este último, debido a que algunas especies de la familia Ixodidae, presentan el ciclo de vida entre 21 a 24 días/promedio (Barker y Murrel, 2008).

2.5.2 Selección de los bovinos

Los bovinos inspeccionados en esta investigación se les abrieron una historia clínica, la cual se constituía de una breve reseña y la evaluación por sistemas (Anexo 1). El número de bovinos presente en cada predio fue entre 15 y 253 animales, de los cuales, se estudiaron al azar 11 bovinos en promedio en cada

predio (Casal y Mateu, 2003), para un total de 694 semovientes en las tres tipologías productivas (Tabla 2-1).

Tabla 2 - 1. Número de bovinos seleccionados por tipología productiva en el departamento de Arauca

| Subregión | Municipios | No veredas | No predios | Bovinos por tipología | | | Total bovinos |
|--------------------|---------------|------------|------------|-----------------------|------|-----------------|---------------|
| | | | | Ceba | Cría | Doble propósito | |
| Sabana Inundable | Arauca | 9 | 14 | 13 | 97 | 46 | 154 |
| | Cravo Norte | 5 | 10 | 13 | 74 | 37 | 124 |
| | Puerto Rondón | 5 | 9 | 29 | 31 | 21 | 81 |
| | Arauquita | 7 | 11 | 17 | 37 | 52 | 106 |
| Piedemonte Llanero | Fortul | 4 | 5 | 0 | 14 | 46 | 62 |
| | Saravena | 5 | 6 | 42 | 24 | 29 | 95 |
| | Tame | 7 | 8 | 10 | 20 | 42 | 72 |
| Total | | 42 | 63 | 124 | 297 | 273 | 694 |

Fuente: Original.

2.5.3 Toma de las muestras

La toma de las muestras en la fase parasítica se realizó mediante la colecta de las garrapatas en cualquier estadio de desarrollo. Para el caso de las garrapatas estándar, mayor de 4.5 mm se empleó las pinzas planas, separándolas suavemente de la piel, sin afectar la estructura de las piezas bucales (López y Betancourt, 1980). Entre tanto, para las muestras en la fase no parasítica, se tomó una pieza de tela bayetilla (largo: 150 cm, ancho: 70 cm) de color blanco (Barandika, 2010). Para el desarrollo de la colecta se tuvo en cuenta la hora del día (6:00 a 9:00 y 13:00 a 14:00). Se eligió este horario ya que presentaba las condiciones ambientales favorables y de mayor actividad de las larvas (Zimmerman y Garris, 1985). Cada 2 a 5 minutos y se recogían las garrapatas para evitar su desprendimiento (Cortés-Vecino, 2011) (ver Anexo 2). Todas las garrapatas colectadas en las dos fases se conservaron en alcohol etílico al 70%, sumergidas completamente en el preservante.

2.5.4 Pruebas de laboratorio

Las formas parasitarias se trasladaron al Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá y el Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad de Antioquia en Medellín, en donde se procedió a la identificación taxonómica y la confirmación molecular de *Rh. (B.) microplus*. La identificación taxonómica se realizó mediante el uso de las claves taxonómicas propuestas por Mullen y Durden (2009); Parra *et al.* (1999) y Strickland *et al.* (1976). Los resultados se registraron en una ficha de conteo (Anexo 3). Las garrapatas no utilizadas se almacenaron en alcohol etílico al 70% y algunas se conservaron a -20 °C, identificadas adecuadamente.

La confirmación molecular de *Rh. (B.) microplus* se realizó con la extracción del ADN, mediante el uso del kit de extracción DNeasy Blood & Tissue (QIAGEN®). Inicialmente se procedió a la descontaminación de la sangre, huevos o artefactos externos a la garrapata, realizando un lavado exhaustivo con PBS estéril y se finalizó con la cuantificación del ADN extraído, con la ayuda del equipo de ELISA de espectrofotometría (Epoch®). Usando la placa paramicrovolúmenes, se tomó 2 µL del ADN y se procedió a la lectura siguiendo las instrucciones del fabricante del equipo. El ADN fue amplificado por PCR convencional, empleando los iniciadores GS81-GS82 y GS131-GS132 (Hernández *et al.*, 2000). Para el ADN empleado como control positivo se tomó una garrapata presente en el museo de Parasitología Veterinaria, de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia, que previamente había sido identificada mediante claves taxonómicas propuestas por Mullen y Durden (2009).

2.5.5 Análisis estadístico de los datos

Se analizaron los resultados mediante el uso de estadística descriptiva, a través del programa estadístico SPSS, versión 21 (2012). Se buscaron diferencias

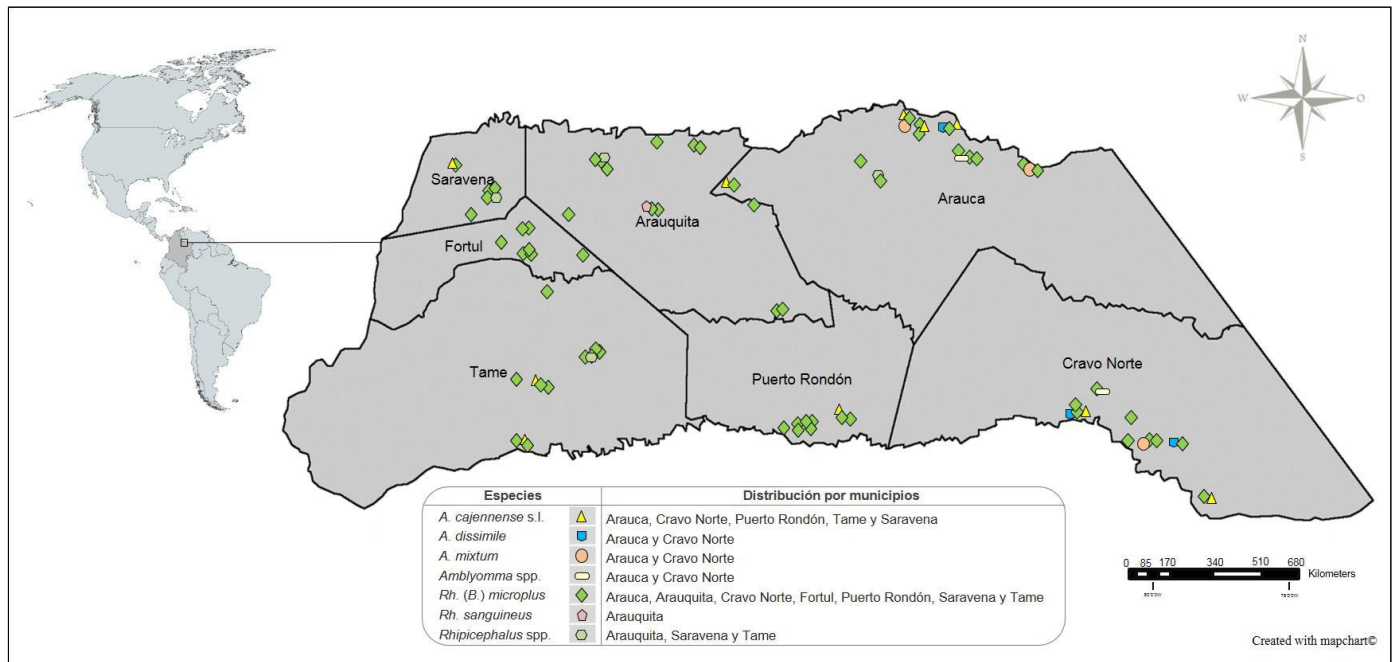
significativas entre los resultados, para lo cual, se empleó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey. Para los factores de riesgo a la prevalencia a la infestación por las garrapatas se analizó mediante una regresión logística.

2.6 Resultados

Se colectaron garrapatas durante las épocas climáticas de verano (enero a marzo), transición verano-invierno (abril a mayo), invierno (junio a septiembre) y transición invierno-verano (octubre a diciembre) de los años 2016 y 2017. El mes de septiembre del año 2016 fue el de mayor colecta de garrapatas (20,8%), mientras que el mes de octubre del año 2017 fue el de mayor colecta de garrapatas (32,1%). Se investigaron un total de 63 predios en 43 veredas en los siete municipios del departamento de Arauca (Figura 2-1).

La fisiografía de los predios estudiados estaba compuesta por banco de sabana con el 30,9%, banqueta con el 28,4%, bajo con el 23%, estero con el 12,9%, y piedemonte, con el 2,5%. El mes en el cual se inició las inundaciones en la zona de estudio fue en mayo con el 49,2% y el mes en el cual finalizó las inundaciones fue en agosto con el 32,3%. Las fincas se encontraban a una altura entre 81 y 348 msnm. Solo 28 bovinos (4,2%) fueron animales de razas puras y 637 (95,8%) fueron animales mestizos. La raza de los bovinos estudiados con mayor número y distribución en el departamento de Arauca, fueron las mestizas con Brahman, con el 54,9%, seguida por la raza Holstein y sus cruces, con el 26,4% en los predios muestreados.

Figura 2 - 1. Distribución geográfica de los géneros de garrapatas en los predios estudiados



Fuente: Original.

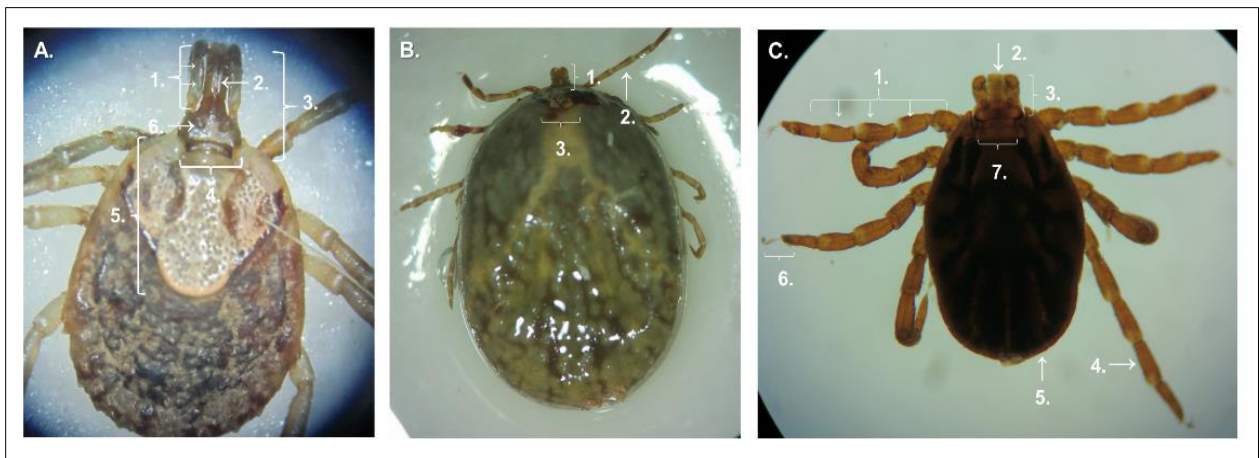
El 95,8% (n = 665) de los bovinos estudiados fueron positivos a infestaciones de garrapatas en los diferentes estadios de desarrollo. El municipio de Arauca fue el de mayor número de bovinos infestados, con el 22,6% (n = 150) y el de menor número fue el municipio de Fortul, con el 8,1% (n = 54). La época de verano fue la de mayores observaciones de garrapatas, con el 55,9% (n = 31.899) y la de menor presencia fue para la época de invierno, con el 5,3% (n = 3.034) de las observaciones. La raza Holstein y sus cruces fueron en las que se observaron mayor número de garrapatas (46,5%), seguida por Pardo Suizo (16,9%) y Simmental (12,7%). De estas razas, dos productores tuvieron que cambiar en definitivo la raza Holstein por el elevado nivel de infestación. Solo el 8,5% de los productores tienen como criterio de inclusión la adaptabilidad para la compra de los semovientes nuevos que ingresan al sistema de producción.

Los principales problemas sanitarios que afectan a los bovinos investigados fueron los hemoparásitos con el 47,9%, enfermedades reproductivas con el 19,7%, diarreas con el 18,3%, pódales con el 9,9% y clostridiales con 4,2%. En los seis meses pre colecta de las muestras, el número de bovinos enfermos por hemoparásitos fue de 312 animales de los 4.508 bovinos presentes en los predios investigados, de los cuales, 119 murieron por esta patología asociada a las garrapatas. El diagnóstico de las enfermedades se realizó mediante el conocimiento empírico (85,7%: n = 54 personas) y sólo el 14,3% (n = 9) acudieron a la ayuda de un profesional para diagnosticar y tratar las patologías.

2.6.1 Especies de garrapatas identificadas en el departamento de Arauca

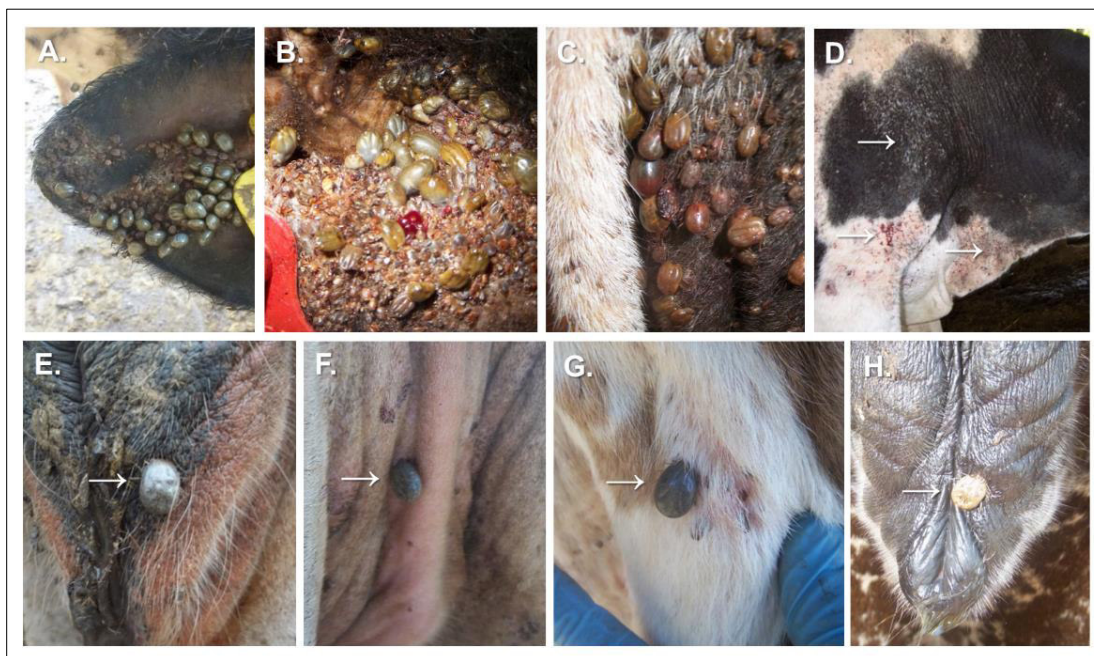
Se identificaron 57.021 garrapatas (ver en detalle en el Anexo 9), distribuidas en los géneros *Rhipicephalus* (96,7%: n = 55.144) y *Amblyomma* (3,3%: n = 1.877) de las muestras identificadas, como se observan en las Figuras 2-2 y 2-3 (Anexo 8). La especie de mayor observación fue *Rh. (B.) microplus* con el 96,5% (n = 55.064) de las muestras estudiadas. En segundo lugar se encuentra *A. cajennense* s.l. con el 2,4% (n = 1.404), seguido por *Amblyomma* spp. con el 0,5% (n = 309), *A. mixtum* con el 0,2% (n = 153), *Rhipicephalus* spp. con el 0,1% (n = 89) y con igual número de apariciones *A. dissimile* con el 0,0020% (n = 1) y *Rh. sanguineus* con el 0,0020% (n = 1) (Figura 2-4 y Anexo 7).

Figura 2 - 2. Especies de garrapatas identificadas en el departamento de Arauca



Especies de garrapatas observadas en fase parasítica. A. *A. mixtum*. Sexo: hembra. Estadio de ninfa. 1. Palpos, 2. Hipostoma, 3. Palpos largos, 4. Área porosa, 5. Escudo ornamentado y 6. Base del capitulum. B. *A. cajennense* s.l.: Sexo: hembra ingurgitada. Estadio de adulto ingurgitada. 1. Palpos largos, 2. Patas y 3. Capitulum triangular y C. *Rh. (B.) microplus*: Sexo: macho. Estadio de ninfa. 1. Patas, 2. Rostro corto, 3. Hipostoma, 4. La cuarta coxa es más larga, 5. Tarso con espolones y 6. Capitulum. Fuente: Original.

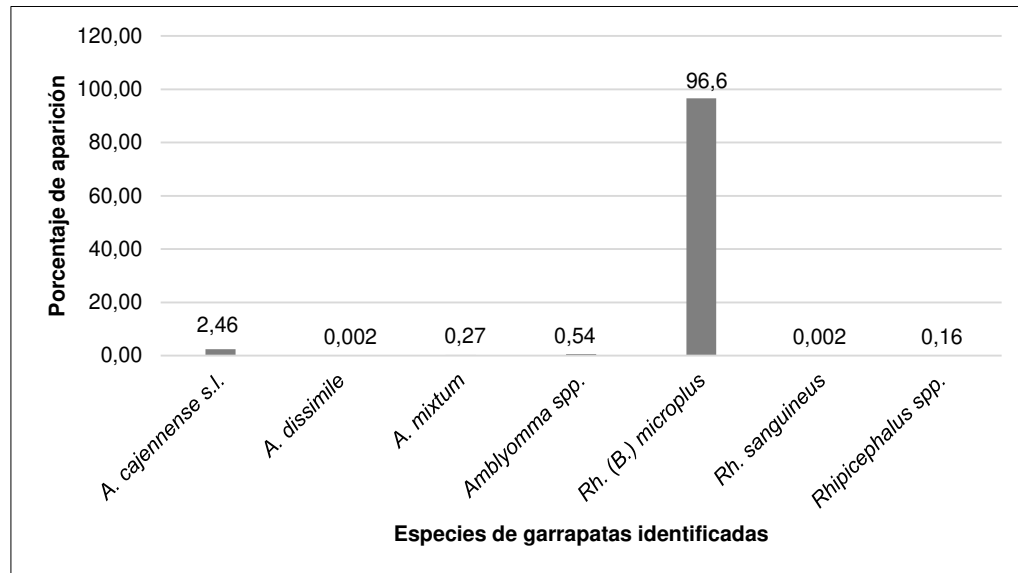
Figura 2 - 3. Garrapatas en estado parasitario en el departamento de Arauca



Bovinos en el municipio de Arauca con infestación masiva en el pabellón auricular, zona perianal y la tabla del cuello de *Rh. (B.) microplus*: A. Infestación en el municipio de Arauca, B. Infestación en el municipio de Saravena, C. Infestación en el municipio de Tame y D. Infestación en el municipio de Tame.

Bovino con lesiones cutáneas e infección secundaria. *A. cajennense* s.l.: E. Infestación en bovino en el municipio de Arauca, F. y G. Infestaciones en bovinos en el municipio de Cravo Norte, y H. Infestación en bovino en el municipio de Arauquita. Fuente: Original.

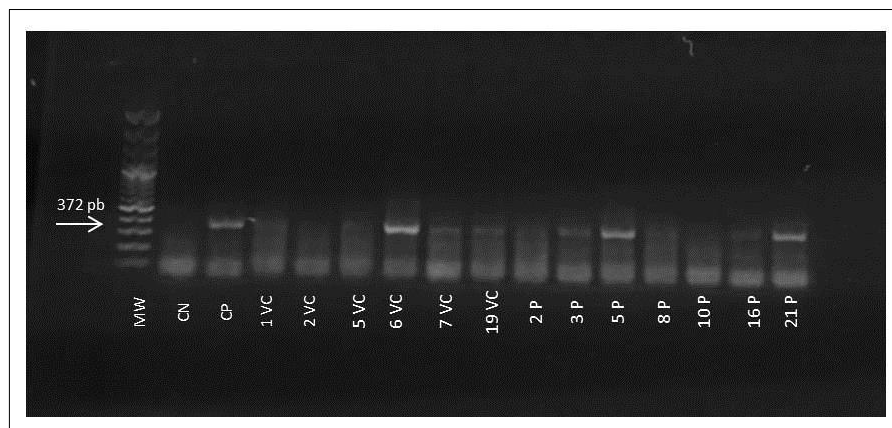
Figura 2 - 4. Distribución porcentual de las especies de garrapatas caracterizadas en el departamento de Arauca



Fuente: Original.

El estadios de desarrollo de mayor frecuencia para el género *Rhipicephalus* fue el de los adultos, con el 81,6% (hembras: 57,4% y machos: 24,2%), seguido por ninfas, con el 11,5% (n = 5.687) y larvas, con el 6,9% (n = 3.392). Para el género *Amblyomma*, fue también el estadio de adulto el de mayor presencia, con el 49,4% (hembras: 25,4% y machos: 24%), seguido por las larvas, con el 43,4% (n = 157) de las muestras y ninfas con el 7,2% (n = 26). El promedio de garrapatas por animal fue de 113 garrapatas en los tres estadios de vida. La técnica molecular permitió confirmar la presencia de *Rh. (B.) microplus* en los bovinos en el departamento de Arauca, a través de la expresión del fragmento 372 pb (Figura 2-5).

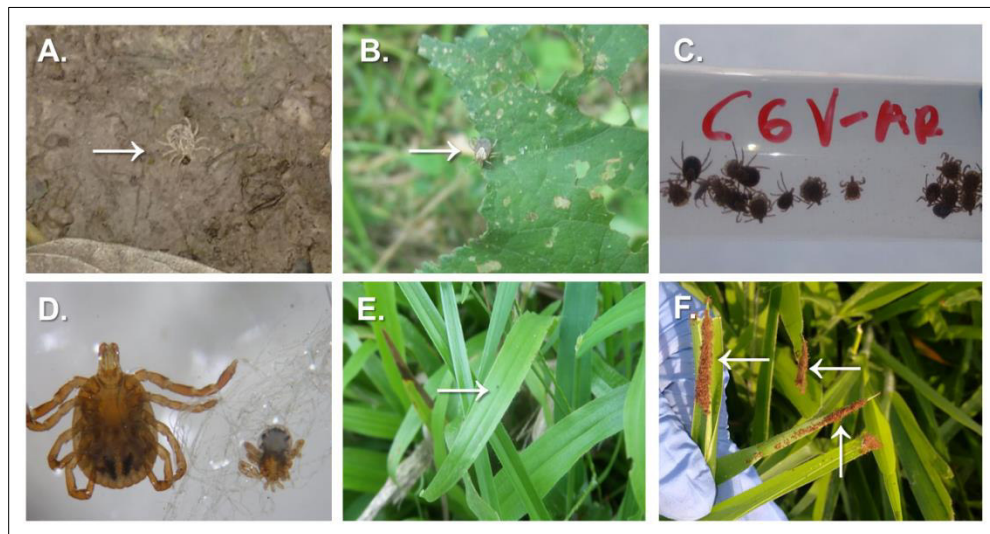
Figura 2 - 5. Producto de PCR obtenido de *Rh. (B.) microplus* del departamento de Arauca



MW: Marcador. CN: Control negativo. CP: Control positivo. 1 VC, 6 VC, 7 VC y 19 VC: *Rh. (B.) microplus* provenientes del municipio de Arauca y 3 P, 5 P, 16 P y 21 P: *Rh. (B.) microplus* provenientes del municipio de Fortul. Fuente: Original.

De las 57.021 garrapatas, 7.058 garrapatas correspondieron al estado no parasítico. De estas, el 80,8% (n = 5.706) correspondió al género *Rhipicephalus* y el 19,1% (n = 1.352) al género *Amblyomma*. Al igual que el estado parasítico, la especie *Rh. (B.) microplus* fue la de mayor presencia, con el 79,6% (n = 5.618), seguido por *A. cajennense* s.l. con el 17,3% (n = 1.219), *Amblyomma* spp. 1,9% (n = 133) y *Rhipicephalus* spp. 1,2% (n = 88) de las garrapatas identificadas en vegetación (Figura 2-6 y Anexo 6). El 99,7% (n = 7.029) de las garrapatas perteneció al estadio de larvas y el 0,3% (n = 19) perteneció al estadio de ninfas.

Figura 2 - 6. Garrapatas en estado no parasítico en el departamento de Arauca



A. y B. Colecta de larvas de *Amblyomma* spp. activas en el suelo y vegetación en los municipios de Arauca y Puerto Rondón. C. Conservación de larvas de *Amblyomma* spp. D. Ninfa de *A. cajennense* s.l. y E. y F. Larvas de *Rh. (B.) microplus* en pasturas en los municipios de Fortul y Tame. Fuente: Original.

2.7 Discusión

El porcentaje de infestación (95,8%) de garrapatas halladas en este estudio fue mayor a los registrados por Rivera-Páez *et al.* (2016) y Rivera-Páez *et al.* (2017) en los municipios de Arauca y Fortul en el departamento de Arauca, en el cual registraron un 73,6%. Así mismo, fue superior a lo observado por Cassalett *et al.* (2013) en los departamento de Casanare y Meta, en donde registraron el 80% de las observaciones de garrapatas. También, fue superior a lo observado en otras regiones de Colombia, como lo reportado por Rodríguez y Betancourt (2013) en el departamento del Cauca, en donde registraron un 85% y lo observado por Contreras (2014), en el departamento de Sucre, en donde registraron sólo el 3,8% de la ganado bovino fue infestado en esta región de Colombia. No obstante, no fue

mayor a lo observado por Villar (1997) en el departamento de Meta, en donde registró el 100% para la presencia de garrapatas en estado parasítico.

Al igual que en otras regiones de Colombia, la especie *Rh. (B.) microplus* (96,5%: n = 49.446) es la de mayor número y distribución en los siete municipios que conforman las dos subregiones del departamento de Arauca. No obstante, no fue mayor a lo registrado por López *et al.* (1985) en 25 municipios en el departamento de Antioquia, en donde la especie *Rh. (B.) microplus* presentó el 99,7% para la presencia de garrapatas en estado parasítico.

La identificación del género *Amblyomma* ha sido reportada por Rivera-Páez *et al.* (2016) en los municipios de Arauca y Fortul del departamento de Arauca (n = 246), sin embargo, el número de garrapatas identificadas fue mayor para *A. cajennense* s.l. (n = 1.404) y *A. mixtum* (n = 153) frente al número de especímenes registrados por los autores.

Se determinó que el 57,1% de las garrapatas encontradas del género *Amblyomma* se distribuyen principalmente en los municipios que conforman la subregión de Sabana Inundable, de los cuales se observaron en el 19% de las fincas investigadas. La presencia de las cuatro especies del género *Amblyomma*, se pudo deberse a la amplia variedad de hospedadores (animales domésticos, silvestres y humanos) que se encuentran en esta subregión. Por otro lado, las condiciones ambientales de la zona pudieron favorecer el establecimiento de las especies de garrapatas, ya que el departamento de Arauca, se encuentra caracterizado como un nicho ecológico natural para *Amblyomma* (ENFA: 96%), registrándose en zonas en donde no se presentan cambios bruscos de temperatura (alto índice de estabilidad térmica), relativamente secas (baja precipitación), altas temperaturas máximas durante los periodos cálidos (31,1 °C) y preferiblemente, ubicadas en tierras bajas (8 a 472,9 msnm) (Acevedo-Gutiérrez *et al.*, 2018).

El bajo número de bovinos infestados en el municipio de Fortul (8,1%) se pudo deber a que en esta zona del departamento fueron investigados 62 bovinos, frente al municipio de Arauca, en donde la población fue casi tres veces mayor. No obstante, se registró un elevado número de garrapatas en los bovinos estudiados, frente a los municipios de Cravo Norte y Puerto Rondón, en donde se investigaron un total de 173 bovinos. Factores como la presencia de razas susceptibles (*Bos taurus* por *B. indicus*: Holstein por cebú: 76,3% versus Criollo Casanare por cebú: 4,3%), manejo (rotación de potreros: 7,9%. Cambio de acaricidas: 6,3%), criterios que emplean para incorporar una nueva raza bovina en las unidades experimentales (adaptabilidad: 8,5%, productividad: 58,2%, resistencia: 7,8% y reproducción: 24,2%), la no existencia de un plan sanitario ajustado a cada unidad experimental (almacén agropecuario: 60,7%, por sí mismo: 7,1%, Médico Veterinario: 27,7% y vecino: 4,5%) y la resistencia de las garrapatas a los acaricidas incidieron en el elevado número de garrapatas en el municipio de Fortul.

El aumento de las garrapatas durante la época de verano (55,9%) se debió quizás a factores como la desnutrición de los bovinos, los cuales durante esta época no consumen la cantidad y calidad de los forrajes, factor nutricional que no les permitió tener un estado fisiológico e inmunológico adecuado para enfrentar las infestaciones de garrapatas (Benavides *et al.*, 2016). También, las condiciones climáticas propias de esta época (humedad: 90% y las escasas precipitaciones: 39 mm) pudieron incidir positivamente sobre la fase no parasítica de las garrapatas, en donde pudieron ovipositar y eclosionaron un mayor número de huevos (Pereira *et al.*, 2008).

La poca presencia de garrapatas durante la época de invierno (5,3%: n = 2.634) pudo deberse a que el ciclo de vida fue afectado por las condiciones climáticas, en donde las precipitaciones aumentan hasta los 2.021 mm al año. Las garrapatas pasan la mayor parte de su ciclo de vida en el ambiente y todas las etapas dependen de una combinación compleja de variables climáticas. De acuerdo a Estrada-Peña (2015), para que la reproducción de una garrapata de la familia

Ixodidae sea exitosa, se requiere de una densidad suficiente de garrapatas adultas, hospedadores disponibles, vegetación favorable y la supervivencia de los huevos. Esta última, pudo ser afectada por las condiciones fisiográficas del suelo de cada predio estudiado, en donde el 81% ($n = 51/63$) de los predios presentaban bajos y esteros, en las cuales el nivel del agua supera el suelo hasta 25 cm de altura, factor que provoca la mortalidad de los huevos, lo que a su vez disminuye el número de garrapatas durante esta época.

Las razas en las cuales se registraron un mayor número de garrapatas fueron las mestizas con Holstein y sus cruces (46,5%), Pardo Suizo (16,9%) y Simmental (12,7%). Este resultado se pudo deber a que son razas introducidas, las cuales no presentan el nivel de adaptabilidad para las condiciones climáticas de una región en la cual no es originaria, por lo cual deberá pasar varias generaciones para que pueda tener un grado de resistencia a estos ectoparásitos (Wharton y Norris, 1980), además, se debe tener en cuenta el tipo de manejo, presencia de otros ectoparásitos y la transmisión de patógenos que las garrapatas vectorizan.

Factores como el déficit fisiológico e inmunitario intrínsecos de los hospedadores, así como, el contacto previo con las garrapatas y sus patógenos transmitidos y estado productivo (preñes o lactancia), permiten que los animales se conviertan en hospedadores perfectos y un nicho habitual para estos ectoparásitos (Benavides, 2002). Según Kunz y Kemp (1994), recomienda introducir a los sistemas de producción, bovinos con diversos grados de mestizaje con razas *Bos indicus* por su mayor resistencia, poco estrés calórico y generalmente ocurre una estabilidad enzoótica de hemoparásitos en esta raza, frente a las razas o cruces con *Bos taurus*.

Esta es la primera investigación en la cual se reportan las especies *Rh. (B.) microplus* (96,5%), *A. cajennense* s.l. (2,4%), *Amblyomma* spp. (0,5%), *A. mixtum* (0,2%), *Rhipicephalus* spp. (0,1%), *A. dissimile* con el (0,0020%) y *Rh. sanguineus* (0,0020%), infestando el ganado bovino en el departamento de Arauca. Sin

embargo, se requieren realizar estudios específicos a nivel molecular para las especies *A. cajennense* s.l., *Amblyomma* spp. y *Rhipicephalus* spp. con el fin de caracterizar en detalle estos géneros. También, se deben realizar estudios adicionales para identificar los patógenos transmitidos por garrapatas y su relación con estos ectoparásitos, teniendo en cuenta la amenaza potencial para los animales y los humanos en el departamento de Arauca.

2.8 Bibliografía

Acevedo-Gutiérrez, L., Paternina, L., Londoño, A., Parra-Henao, G., Rodas, J., 2018. Modelos potenciales de distribución geográfica y climática del complejo *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae), potencial vector de *Rickettsia rickettsii* en Colombia. *Biomédica* 38, 534-544. doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.3885

Betancourt J.A., 1990. Experiencias colombianas en bioecología de la garrapata *Boophilus microplus* (Can.). Memorias Seminario Internacional sobre Diagnóstico, Epidemiología y Control de Enfermedades Hemoparasitarias. Palmira. Colombia. GTZ-ICA. p. 54-71.

Barker, S., Murrell, A., 2008. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. In: Bowman, A., Nutall, P., Editors. Ticks: biology, disease and control. Cambridge: Cambridge University Press. pp. 1-39.

Barandika, J., 2010. Las garrapatas exófilas como vectores de agentes zoonóticos: estudio sobre la abundancia y actividad de las garrapatas en la vegetación, e investigación de la presencia de agentes patógenos en garrapatas y micromamíferos. [Tesis de Doctorado]. [León. España]. ULe. pp. 44-273.

Benavides, E., 2002. Epidemiología y control de los hematozoarios y parásitos tisulares que afectan al ganado. *Carta Fedegan* 72, 112-134.

Benavides, E., Romero, J., Villamil, L.C., 2016. Las garrapatas del ganado bovino y los agentes de enfermedad que transmiten en escenarios epidemiológicos de cambio climático. *IICA*. pp. 96.

Casal, J., Mateu, E., 2003. Tipos de muestreo. *Revista de Epidemiología Medicina Preventiva* 1, 3-7.

Cassalett, E., Parra, J., Onofre, H., 2013. Boletín técnico diagnóstico, manejo, control integrado de ectoparásitos en bovinos doble propósito del Piedemonte Llanero. *Corpoica*. pp. 56.

Contreras, A., 2014. Fauna de garrapatas (Acari: Ixodidae) prevalentes en el departamento de Sucre, Caribe colombiano. [Tesis de pregrado]. [Sincelejo, Sucre. Colombia]. Universidad de Sucre. pp. 67.

Cortés-Vecino, J.A., 2011. Bioecología, distribución y comportamiento de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) en el Altiplano cundiboyacense, Colombia. [Tesis de Doctorado]. [Bogotá D.C. Colombia]. UNAL. pp. 359.

Estrada-Peña, A., 2015. Orden Ixodida: Las garrapatas. Revista IDE@-SEA 13, 2-15.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations., 1984a. Tick and tick borne diseases control: A practical field manual. Roma. pp. 210-297.

Grisi, L., Leite, R., Martins, J., Barros, Andreotti, A., Cançado, P., León, A., 2014. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária 23, 150-156.

Hernández, R., He, H., Chen, A., Waghela, S., Ivie, W., George, G., Wagner, G., 2000. Identification of a point mutation in an esterase gene in different populations of the southern cattle tick, *Boophilus microplus*. Insect Biochemistry and Molecular Biology 30, 969-977.

Hernández, R., Guerrero, F., George, J., Wagner, G., 2002. Allele frequency and gene expression of a putative carboxylesterase-encoding gene in a pyrethroid resistant strain of the tick *Boophilus microplus*. Insect Biochemistry and Molecular Biology 32, 1009-1016.

ICA. Instituto Colombiano Agropecuario., 2018. Censo pecuario nacional 2018. Inventario bovino en Colombia. ICA. pp. 2-3.

Kunz, S., Kemp, D., 1994. Insecticides and acaricides: resistance and environmental impact. Revue scientifique et technique. International Office of Epizootics 13(4), 1249-1286.

Lew-Tabor, A., Rodríguez, M., 2016. A review of reverse vaccinology approaches for the development of vaccines against ticks and tick borne diseases. Ticks and Tick-borne Diseases 7(4), 573-585. doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.12.012

López, G., Betancourt, J.A., 1980. Claves para identificación de garrapatas. En: Control de Garrapatas. Instituto Colombiano Agropecuario, Regional 4, Antioquia-Chocó. Compendio 39. pp. 127-140.

López, G., Zuñiga, I., Villar, C., Osorio, D., 1985. Distribución de garrapatas en 25 municipios del departamento de Antioquia. Revista ICA 20, 40-44.

Mullen, G., Durden, L., 2009. Glossary. En: Medical and Veterinary Entomology. London: Academic Press. Ticks (Ixodidae). pp. 595.

Onofre, H., Parra, J., Villar, C., Acevedo, L., Holguín, E., 1997. Dinámica poblacional del parasitismo gastrointestinal y pulmonar y variables hemáticas de terneros del departamento de Arauca. CRI La Libertad. Corpoica. En: Curso de producción bovina; 1997, Tame, Arauca, Colombia. pp. 74-82.

Parra, M., Peláez, L., Segura, F., Arcos, J., Londoño, J., Díaz, E., Vanegas, M., 1999. Manejo integrado de garrapatas en bovinos. Corpoica-PLANT-SENA. pp. 80.

Pereira, M., Labruna, M., Szabó, M., Klafke, G., 2008. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: biologia, controle e resistência. São Paulo: Livros Medicina Veterinária. pp. 159.

Pérez, A., Lizarazo, E., Vargas, O., Jiménez, H., Jaime, W., Díaz, J., Lozano, B., 2002. Formulación y ajuste de estructuras reguladoras para el manejo de aguas en las sabanas de Arauca y su efecto sobre la producción en el sistema de explotación bovino de cría. Corpoica-Inat. pp. 59-65.

Piedrahita, I.D., Restrepo, J.G., 1974. Garrapatas del ganado bovino del Valle de Aburrá. Tesis, Universidad de Antioquia, Medellín-Colombia. pp. 176.

PBA. Proyecto Bovino Arauca., 2014. Informe técnico de aplicación de encuesta de validación. En: PBA. Universidad Nacional de Colombia-Gobernación de Arauca-Gobernación del Vichada. pp. 132.

Rivera-Páez, F., Labruna, M., Martins, T., Sampieri, B., Camargo-Mathias, M., 2016. *Amblyomma mixtum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae): First record confirmation in Colombia using morphological and molecular analyses. Ticks and Tick-borne Diseases 7, 842-848.

Rivera-Páez, F., Labruna, M., Martins, T., Rodrigues-Sampieri, B., Camargo-Mathias, M., 2017. A case of gynandromorphism in *Amblyomma mixtum* (Acari, Ixodidae). Revista Colombiana de Entomología 43(2), 268-270

Rivera-Páez, F., Labruna, M., Martins, T., Perez, J., Castaño-Villa, G., Ossa-López, P., Gil, C., Rodrigues, B., Aricapa-Giraldo, H., Camargo-Mathias, M., 2018. Contributions to the knowledge of hard ticks (Acari: Ixodidae) in Colombia. Ticks and Tick-borne Diseases 9(1), 57-66. doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.10.008.

Rodriguez, C.E., Betancourt, J.A., 2013. Estudios sobre identificación y control de garrapatas de bovinos en el departamento del Cauca. Novedades Tecnicas. 38-43.

Suárez, M., 2011. Interaprendizaje de estadística básica. Primera Edición, editorial Tapia. Ibarra-Ecuador. pp. 29-125.

Strickland, R., Gerrish, R., Hourrigan, J., Schubert, G., 1976. Ticks of veterinary importance. USDA, Agricultural Handbook 485. Washington, D.C. pp. 122.

Villar, C. 1997. Utilización de la resistencia de los bovinos a las garrapatas como alternativa de control. CRI La Libertad. Corpoica. Memorias curso de producción bovina. Tame, Arauca. Colombia. pp. 102-107.

Wharton, R.H., Norris, K.R., 1980. Control of parasitic arthropods. Vet. Parasitol 6, 135-164.

Woolley, A., Montgomery, M., Savage, W., Achebe, M., Dunford, K. Villeda, S., Maguire, J., Marty, F., 2017. Post-babesiosis warm autoimmune hemolytic anemia. New England Journal of Medicine 376, 939-946. doi.10.1056/NEJMoa1612165

Zimmerman, R., Garris, G., 1985. Sampling efficiency of three dragging techniques for the collection of nonparasitic *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) larvae in Puerto Rico. Journal of Economic Entomology 78(3), 627-631.

3. Caracterización epidemiológica y factores de riesgo asociados a la presencia de garrapatas en bovinos del departamento de Arauca, Colombia

3.1 Resumen

La gran diversidad de patógenos que pueden transmitir las garrapatas ha hecho que se clasifiquen como los primeros vectores de importancia en la salud animal y los segundos en la salud humana. Esta investigación aplicó una encuesta epidemiológica a 79 productores ganaderos y se colectaron garrapatas en estado parasítico y no parasítico. Se realizaron ensayos de PCR para la detección de *Rickettsia* spp. y los datos obtenidos de la encuesta se utilizaron para identificar las medidas de frecuencia y los factores de riesgo asociados a la presencia de garrapatas. La tasa de incidencia fue del 5% para los bovinos y del 7,9% para los predios estudiados. La prevalencia a infestaciones de garrapatas fue del 93,3% para los bovinos y del 100% para los predios. La prevalencia más alta para la especie de garrapatas fue para *Rh. (B.) microplus*, con el 96,5% (n = 55.054) de las observaciones, seguida por *A. cajennense* s.l. con el 2,4% (n = 1.404). Se registró por primera vez en el departamento de Arauca la infección de *Rickettsia amblyommatis* identificada en *A. mixtum* colectada de bovinos. La resistencia a moléculas químicas por parte de *Rh. (B.) microplus* fue hasta del 90%, factor que pudo garantizar mayor supervivencia del vector y patógenos en los bovinos según la encuesta. La confirmación de *A. cajennense* s.l., *A. dissimile*, *A. mixtum*, *Amblyomma* spp., *Rh. (B.) microplus*, *Rh. sanguineus* y *Rhipicephalus* spp. y *R. amblyommatis*, además de la identificación de los factores de riesgo asociados a la presencia de garrapatas, permitiría inferir sobre la presencia de diferentes patógenos transmitidos por estos artrópodos que infestan el ganado bovino, principalmente a la infección de *Babesia* spp., sin embargo, se debe profundizar en el estudio de este patógeno en el futuro.

Palabras clave: *Amblyomma*, epidemiología, patógeno, *Rickettsia amblyommatis*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, vector.

3.2 Resumo

A grande diversidade de patógenos que os carrapatos podem transmitir foi classificada como os primeiros vetores de importância na saúde animal e a segunda na saúde humana. Esta pesquisa aplicou um levantamento epidemiológico a 79 produtores de gado e carrapatos foram coletados em um estado parasitário e não parasitário. Os ensaios de PCR foram realizados para a detecção de *Rickettsia* spp. e os dados obtidos na pesquisa foram utilizados para identificar as medidas de frequência e os fatores de risco associados à presença de carrapatos. A taxa de incidência foi de 5% para bovinos e de 7,9% para as fazendas estudadas. A prevalência de infestações por carrapatos foi de 93,3% para bovinos e 100% para fazendas. A maior prevalência para as espécies de carrapatos foi para *Rh. (B.) microplus*, com 96,5% (n = 55.054) das observações, seguido de *A. cajennense* s.l. com 2,4% (n = 1.404). A infecção por *Rickettsia amblyommatis* identificada em *A. mixtum* coletada de bovinos foi registrada pela primeira vez. A resistência a moléculas químicas por *Rh. (B.) microplus* foi de até 90%, fator que poderia garantir maior sobrevivência do vetor e patógenos em bovinos segundo a pesquisa. A confirmação de *A. cajennense* s.l., *A. dissimile*, *A. mixtum*, *Amblyomma* spp., *Rh. (B.) microplus*, *Rh. sanguineus* e *Rhipicephalus* spp. e *R. amblyommatis* além da identificação dos fatores de risco associados com a presença de carrapatos, pode-se inferir a presença de artrópodes suportadas diferentes agentes patogênicos que infectam esses bovinos, principalmente à infecção de *Babesia* spp., no entanto, o estudo deste patógeno no futuro deve ser aprofundado.

Palavras-chave: *Amblyomma*, epidemiologia, patógeno, *Rickettsia amblyommatis*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, vetor.

3.3 Abstract

The great diversity of pathogens that ticks can transmit has ranked them as the first vectors of importance in animal health and the second in human health. This research an epidemiological survey among 79 cattle producers and ticks were collected in a parasitic and non-parasitic state. PCR assays were performed for the detection of *Rickettsia* spp. and the data obtained from the survey were used to identify the measures of frequency and the risk factors associated with the presence of ticks. The incidence rate was 5% for cattle and 7.9% for the farms studied. The prevalence of tick infestations was 93.3% for bovines and 100% for farms. The highest prevalence for the tick species was for *Rh. (B.) microplus*, with 96.5% (n = 55,054) of the observations, followed by *A. cajennense* s.l. with 2.4% (n = 1,404). *Rickettsia amblyommatis* infection identified in *A. mixtum* collected from bovines was recorded for the first time. The resistance to chemical molecules by *Rh. (B.) microplus* was up to 90%, a factor that could guarantee greater survival of the vector and pathogens in cattle according to the survey. The confirmation of *A. cajennense* s.l., *A. dissimile*, *A. mixtum*, *Amblyomma* spp., *Rh. (B.) microplus*, *Rh. sanguineus* and *Rhipicephalus* spp. and *R. amblyommatis*, in addition to the identification of risk factors associated with the presence of ticks, permit to infer on the presence of different pathogens transmitted by these arthropods that infect cattle, mainly *Babesia* spp. Infection. However, it is necessary to deepen the study of this pathogen in the future.

Keywords: *Amblyomma*, epidemiology, pathogen, *Rickettsia amblyommatis*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, vector.

3.4 Introducción

Las garrapatas por alimentarse de sangre, pueden infestar prácticamente a todos los vertebrados terrestres y representa una gran amenaza para los animales por

causar daños directos asociados con la alimentación de sangre y a través de la secreción de toxinas dentro de su saliva. La principal relevancia de las garrapatas radica en la gran variedad de patógenos que pueden transmitir, incluyendo bacterias, virus, protozoos y helmintos a sus hospedadores (Woolley *et al.*, 2017; OIE, 2009). En la actualidad, 89 de las 939 especies de garrapatas conocidas tienen importancia Médica y Veterinaria significativa (de la Fuente *et al.*, 2017). Los términos "capacidad vectorial" y "competencia vectorial" se usan a menudo para describir la habilidad de un artrópodo para servir como un vector de una enfermedad (Beerntsen *et al.*, 2000). No obstante, mientras que la capacidad vectorial está influenciada por determinantes ambientales y de comportamiento que afectan variables tales como la densidad, longevidad y competencia del vector, la competencia vectorial es un componente de la capacidad vectorial que depende de factores genéticos que afectan a un vector para transmitir un patógeno (Narasimhan *et al.*, 2014).

La infección de *R. amblyommatis* se ha detectado en garrapatas de Brasil, Costa Rica y Nicaragua (Lopes *et al.*, 2018; Karpathy *et al.*, 2016). Sin embargo, la infección de esta *Rickettsia* transmitida por garrapatas con potencial patogenicidad es desconocida para el departamento de Arauca y Colombia. El cambio de la dinámica de los recursos ambientales y el aumento de las actividades humanas sobre estos, han permitido el contacto con garrapatas normalmente presentes en regiones no endémicas, promoviendo la aparición y el resurgimiento de patógenos antes no registrados en sistemas de producción animal en el mundo (Sajid *et al.*, 2017). El objetivo de la presente investigación fue establecer la prevalencia y los factores de riesgo ligados a la presencia de garrapatas y patógenos asociados en el ganado bovino en las dos subregiones del departamento de Arauca, Colombia.

3.5 Materiales y métodos

Todos los procedimientos realizados a los bovinos se siguieron bajo las normas para la experimentación con animales del Comité de Bioética de la FMVZ, de la

Universidad Nacional de Colombia (No CB-088-2015), así como, el consentimiento de cada uno de los propietarios investigados para la toma de muestras a los semovientes.

3.5.1 Diseño del estudio

La muestra se diseñó bajo un número probabilístico finito, en el que las unidades de muestreo fueron las fincas dentro de los siete municipios del departamento y las unidades de análisis eran los bovinos presentes en cada unidad experimental. Los cálculos del tamaño de la muestra arrojaron un total de 694 bovinos distribuidos en 63 predios en los siete municipios del departamento. Este tamaño muestral sería suficiente para detectar las asociaciones con un nivel de confianza del 90%, considerando un límite del error del 10% y una prevalencia esperada a infestaciones de garrapatas del 42% (Cassalett *et al.*, 2013; Parra *et al.*, 2003). La elección de los predios se realizó mediante una asignación aleatoria simple, con el fin de elegir al azar cada predio, por cada tipología productiva (ceba, cría y doble propósito). Se muestrearon 11 bovinos en promedio por cada predio, en donde se presentó variaciones en el manejo y la tipología racial de los animales, esta última, con temperamentos dóciles y agresivos. Esta investigación midió el riesgo mediante una observación longitudinal, de tipo cohorte, realizando el seguimiento de las infestaciones de garrapatas durante los años 2016 y 2017.

3.5.2 Criterios de inclusión y exclusión

Se incluyeron bovinos de cualquier edad y de ambos sexos. Bovinos que estuvieran en las tipologías productivas de ceba, cría y doble propósito de las dos subregiones del departamento de Arauca. Se excluyó la tipología lechería tropical, debido a que solo se encontraban en la subregión del Piedemonte Llanero y bovinos a los que no se les aplicara ningún método de control químico y no químico 25 días pre colecta de las muestras, lo anterior, debido a que algunas especies de garrapatas de la familia Ixodidae, presentan un ciclo de vida entre 21 a 24 días (Barker y

Murrel, 2008), por lo cual se podría incurrir en sesgos por la no presencia de dichas especies.

3.5.3 Encuesta epidemiológica

Se realizaron de forma oral 91 encuestas a 79 productores ganaderos. La encuesta fue de forma estructurada, en donde el contenido de las preguntas fueron dicotómicas y politómicas para recopilar información de forma estandarizada sobre las tipologías raciales, edad, nutrición, tipo de vegetación, métodos de control y en general el manejo de los bovinos en cada sistema productivo (Anexo 4). Las personas encuestadas, habían tenido relación directa e indirecta con el manejo de los semovientes durante un tiempo de 1 a 35 años y su edad oscilaba entre 17 a 69 años.

2.5.4 Pruebas de laboratorio

Las formas parasitarias se trasladaron al Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia y al Laboratorio de Parasitología del Departamento de Medicina Veterinaria Preventiva y Salud Animal de la Universidad de São Paulo en Brasil, en donde se procedió a la identificación taxonómica y el análisis molecular. Las muestras de garrapatas fueron conservadas en metanol absoluto e identificadas morfológicamente a través de las claves taxonómicas propuestas por Mullen y Durden (2009); Parra *et al.* (1999) y Strickland *et al.* (1976). Para la identificación de *A. cajennense* s.l. la observación se centró en el orificio genital característico de la hembra para confirmación de la especie.

La identificación de patógenos transmitidos por las garrapatas se centro en la identificación molecular de *Rickettsia* spp. para lo cual se realizó la extracción del ADN de *A. mixtum* con GT (método de Tiocianato de Guanidina), individualmente para machos, hembras y ninfas, así como, por grupos de larvas. Se amplificaron por PCR convencional los genes *gltA* y *ompA*, utilizando el conjunto de iniciadores

CS-78/CS323 y Rr190.70p (Labruna *et al.*, 2004; Regnery *et al.*, 1991). Las muestras positivas fueron sometidas a secuenciación e identificación de especie posterior a la edición básica. Para la obtención de la secuencia consenso y alineamiento se empleó la herramienta BLAST, con secuencias depositadas en el GenBank, usando el software Geneious Prime 2019.1.

3.5.5 Análisis estadístico

La tasa de incidencia se estimó teniendo en cuenta el número de bovinos nuevos en el numerador y el número de bovinos evaluados durante los meses estudiados como denominador. La prevalencia se cuantificó teniendo en cuenta el número de bovinos nuevos con infestación de garrapatas más los bovinos ya infestados de garrapatas y en el denominador el total de los bovinos estudiados durante los meses investigados (Gordis, 2008). Se identificaron como marcadores del riesgo la edad, raza, sexo, época climática, tipologías productivas y subregión. Los odds ratios se transformaron en riesgo relativo utilizando la fórmula propuesta por Localio *et al.* (2007). Todos los análisis se realizaron en el paquete estadístico SAS 9.04.01 (SAS, 2016)

3.6 Resultados y discusión

La tasa de incidencia a infestaciones de garrapatas fue del 5% para los bovinos y del 7,9% para las fincas estudiadas durante los años 2016 y 2017. La prevalencia a infestaciones de garrapatas fue del 93,3% para los bovinos y del 100% para los predios durante los dos años investigados. La mortalidad proporcional para las infestaciones de garrapatas en los bovinos fue del 0,4% durante los dos años estudiados en las dos subregiones del departamento. La mortalidad en los 694 bovinos fue del 0,14% ($n = 1$ bovino/2016) en el departamento de Arauca. En la cual se logro comprobar mediante un seguimiento y análisis semiológico exhaustivo el elevado nivel de infestación de garrapatas. La prevalencia más alta fue para *Rh.*

(*B.*) *microplus*, con el 96,5% (n = 49.446) de las apariciones, seguida por *A. cajennense* s.l. con el 0,37% (n = 185), *Amblyomma* spp. con el 0,35% (n = 176), *A. mixtum* con el 0,3% (n = 153) y con iguales prevalencias *A. dissimile*, *Rh. sanguineus* y *Rhipicephalus* spp. el 0,002% (n = 1).

La raza que presentó mayor número de garrapatas en los 63 predios investigados fue la Holstein con el 57,8% (n = 33). Este número se pudo deber a que esta raza se encontró en mayor proporción en las fincas dedicadas a la tipología de doble propósito. Por otro lado, se logró identificar que esta raza se encuentra ampliamente distribuida en los cuatro municipios de la subregión del Piedemonte Llanero y su introducción se debe a que los productores emplean el criterio productivo como principal requisito para incorporar una nueva raza a los predios (58,2%), lo que les genera un valor productivo más elevado, frente a las razas *B. indicus*, sin embargo, la poca adaptación de esta raza permite que las garrapatas puedan mantenerse en los sistemas de producción.

3.6.1 Detección molecular de *Rickettsia amblyommatis*

Se obtuvieron 153 adultos identificados como *A. mixtum* (98 hembras y 55 machos). Se realizó una extracción de ADN de 42 muestras de *A. mixtum* (20 machos y 22 hembras) de las cuales una hembra (2,38%) amplificó para ambos genes con una secuencia con homología del 100% para *R. amblyommatis* (GenBank-EF194096.1). Lo anterior, evidencia la circulación de la especie *R. amblyommatis* en garrapatas *A. mixtum* en el departamento de Arauca.

Este es el primer reporte de *R. amblyommatis* en el departamento de Arauca. Esta *rickettsia* conocida anteriormente como *R. amblyommii* (Karpathy *et al.*, 2016) identificada en *A. mixtum* colectadas en bovinos. En Colombia, Quintero *et al.* (2018), establecieron seroprevalencia en la región del Urabá (Antioquia) de *R. amblyommatis* en equinos 9%. Por su parte, en Brasil, Marque *et al.* (2018), registraron caninos silvestres seroreactivos con títulos de punto final para *R.*

amblyommatitis con un rango de 64 a 1.024. Los títulos de anticuerpos de punto final anti-*amblyommatitis* fueron al menos cuatro veces más altos que los títulos de punto final para los demás antígenos rickettsiales estudiados, lo que sugiere unas reacciones a *R. amblyommatitis* o a un organismo estrechamente relacionado. También, se pueden producir infecciones en humanos; Levin *et al.* (2018) registraron una prevalencia del 97%, concluyendo un efecto de *R. amblyommatitis* en la competencia vectorial de *A. americanum* para la infección de *R. rickettsii*. La identificación de *R. amblyommatitis* representa un avance para la epidemiología de las rickettsias en el departamento de Arauca, sin embargo, se requiere continuar con un mayor número muestras para la extracción de ADN y análisis molecular para establecer la frecuencia de infección e identificar ésta y otras posibles especies que afectan el ganado bovino en esta región de Colombia.

3.6.2 Factores de riesgo asociados a la presencia de garrapatas

Para el departamento de Arauca, se logró identificar diferentes elementos bióticos y abióticos que se agruparon en la tétrada epidemiológica, como efectos antropogénicos, de los hospedadores, del medio ambiente y los causados por los patógenos, los cuales de manera individual o unidos pudieron permitir la presencia de los géneros de garrapatas *Rhipicephalus* y *Amblyomma* identificadas en este estudio (Figura 2-5) y la posible transmisión de otros patógenos, adicionales a *R. amblyommatitis* en el ganado bovino.

3.6.2.1 Efectos antropogénicos:

1. La tipología productiva (ceba: 5,34%, cría: 39,3% y doble propósito: 55,3%).
2. El poco o el inadecuado manejo en los sistemas de producción (rotación de potreros: 7,9%. Cambio de acaricidas: 6,3%).

3. Tipos de sistemas de producción (extensivo: 17,1%, semi-extensivo: 26,2% y semi-intensivo: 56,7%).
4. Desconocimiento de aspectos biológico por parte del productor (96,2%: n = 61).
5. El 63% (n = 419) de los bovinos investigados registraron una condición corporal de 2-3 (1-5).
6. Realizan suplementación mineralizada (Piedemonte Llanero: 90%, n = 27. Sabana inundable: 30%, n = 10) y alimenticia (Piedemonte Llanero: 83%, n = 25. Sabana inundable: 12%, n = 9).
7. Pertenencia étnica (Piedemonte Llanero: 70% mestizas. Sabana inundable: 48,5% raizales).
8. La no existencia de un plan sanitario ajustado a cada unidad experimental (almacén agropecuario: 60,7%, por sí mismo: 7,1%, Médico Veterinario: 27,7% y vecino: 4,5%).
9. Criterios que emplean para incorporar una nueva raza bovina en las unidades experimentales (adaptabilidad: 8,5%, productividad: 58,2%, resistencia: 7,8% y reproducción: 24,2%).

3.6.2.2 Efectos hospedadores:

1. Infestación por sexo de los bovinos (hembras: 87,1% y machos: 12,9%).
2. Presencia de las razas susceptibles *Bos taurus* por *B. indicus* (Holstein por cebú: 76,3% versus Criollo Casanareño por cebú: 4,3%).

3. Mayor densidad de población bovina por hectárea (Piedemonte Llanero: 61,9%. Sabana inundable: 4,8%).

3.6.2.3 Efectos ambientales:

1. La época climática de verano (verano: 55,9% e invierno: 44,1%) y es en la cual escasea el alimento.

2. Condición de drenaje de los suelos en cada unidad experimental (bajo: 81%, banco: 77,8%, estero: 42,9%, médano: 7,9% y Piedemonte Llanero: 11,1%).

3. Prevalencia del género *Amblyomma* por Subregión (Piedemonte Llanero: 4,6%. Sabana inundable: 95,4%).

3.6.2.4 Efectos patógenos:

1. Prevalencia entre especies de garrapatas (*Rh. (B.) microplus*: 96,5%, *A. cajennense* s.l.: 2,46%, *A. mixtum*: 0,27%).

2. Prevalencia entre los géneros de garrapatas identificados en el departamento de Arauca (*Rhipicephalus*: 95,3% y *Amblyomma*: 4,7%).

De acuerdo a los encuestados, los principales problemas sanitarios que afectan a los bovinos investigados fueron los hemoparásitos con el 47,9% y las diarreas con el 16,4%. En los seis meses pre colecta de las muestras, el número de bovinos enfermos por hemoparásitos fue de 312 animales de 4.508 bovinos presentes en los predios investigados, de los cuales, 119 murieron por esta patología asociada a las garrapatas. No obstante, el diagnóstico de las anteriores enfermedades se realizó mediante el conocimiento empírico de los productores (85,7%: n = 54

personas) y sólo el 14,3% (n = 9) de los productores acudieron a la ayuda de un Veterinario para diagnosticar y tratar estas patologías.

3.6.3 Factores de riesgo asociados a la presencia de *Babesia* spp.

Los efectos de las garrapatas en la salud humana y animal son múltiples. En la ganadería bovina, la babesiosis es una limitante importante desde el punto de vista sanitario y económico. Se ha descrito que *Rh. (B.) microplus* y *Rh. (B.) annulatus* son los principales vectores de *B. bovis* y *B. bigemina* en el mundo (Valli *et al.*, 2017; Mateus, 1990). El impacto económico en la industria ganadera es de US \$ 10 mil millones por año en todo el mundo (Lew-Tabor y Rodríguez, 2016). Los animales jóvenes como los adultos son susceptibles a la infección cuando se exponen por primera vez a *Rh. (B.) microplus* (Zintl *et al.*, 2005). En condiciones de estabilidad endémica, los rebaños contienen un gran número de animales portadores asintomáticos, que en condiciones de estrés nutricional y ambiental conducen a una infección crónica (Schnittger *et al.*, 2012).

En Brasil, Pupin *et al.* (2018) registraron hasta el 79% de seroprevalencia para *B. bovis*. En México, Cen-Aguilar *et al.* (1998), identificaron que hembras de *Rh. (B.) microplus*, con pesos entre 210 a 250 mg, presentaban una relación directa a la presencia de *B. bovis*. En Colombia, Jaimes-Dueñez *et al.* (2017), en estudios de patógenos transmitidos por vectores en los departamentos de Antioquía y Arauca, registrando que el 31,5% y 13,8% de las garrapatas fueron positivas a *B. bigemina* y *B. bovis* respectivamente. Calderón *et al.* (2016) determinaron la frecuencia de *Babesia* spp. en el ganado bovino del Caribe colombiano. Así mismo, los análisis mostraron que el 19,3% del ganado bovino se encontraban infectados, lo que revela que esta zona es endémica para babesiosis. Por su parte, Ríos *et al.* (2010), evaluaron el nivel de estabilidad enzoótica en Puerto Berrio, Antioquía, en donde utilizaron como indicador el anticuerpos tipo InG, indicando una serorreactividad del 65,6%. También, se obtuvieron una serorreactividad mixta del 17%.

Para el departamento de Arauca, la presente investigación logró identificar diferentes factores que pudieron permitir la infección de *Babesia* spp. en el ganado bovino, como la abundancia de *Rh. (B.) microplus* la cual fue del 96,5%. La abundancia del vector biológico puede aumentar la tasa de infección de *Babesia* spp., siendo importante el nivel de infestación de garrapata-*Babesia* (Guglielmone, 1995). También, el nivel resistencia a acaricidas de *Rh. (B.) microplus* fue hasta del 90%, estado fisiológico que puede garantizar la presencia de *Babesia* spp. por la poca mortalidad del vector. La época de verano es la de mayor infestación de *Rh. (B.) microplus* y es en donde escasea el alimento, este hecho podría disminuir el estado inmunitario de los bovinos lo que podría permitir un desequilibrio en la estabilidad enzoótica patógeno-hospedador (Giles *et al.*, 2014). De acuerdo a los productores encuestados, el 47,9% de las enfermedades que afectan a los bovinos investigados se relacionan a hemoparásitos, presentado una morbilidad del 6,9% (312 bovinos) y una mortalidad del 38,1% (119 bovinos).

La situación epidemiológica para *Babesia* spp. en la ganadería bovina del departamento de Arauca y en general de la Orinoquía colombiana ha sido pobremente estudiada, siendo necesario ampliar y actualizar el conocimiento sobre el impacto de este protozooario a los nuevos cambios ambientales y de manejo de la región.

3.7 Bibliografía

Barker, S., Murrell, A., 2008. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. In: Bowman, A., Nutall, P., Editors. Ticks: biology, disease and control. Cambridge: Cambridge University Press. pp. 1-39.

Blanco, R., Cardona, J., Vargas, M., 2016. Prevalencia de parásitos hematópicos endoglobulares en bovinos gyr puros en Córdoba, Colombia. Revista de Medicina Veterinaria 31, 67-74. doi.org/10.19052/mv.3710

Beerntsen, B., James, A., Christensen, B., 2000. Genetics of mosquito vector competence. Microbiology and Molecular Biology Reviews 64, 115-137.

Calderón, A., Martínez, N., Iguarán, H., 2016. Frecuencia de hematozoarios en bovinos de una región del caribe colombiano. Revista U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica 19(1), 131-138.

Cassalett, E., Parra, J., Onofre, H., 2013. Boletín técnico diagnóstico, manejo, control integrado de ectoparásitos en bovinos doble propósito del Piedemonte Llanero. Corpoica. pp. 56.

Cen-Aguilar, J., Rodríguez-Vivas, R., Dominguez-Alpizar, J., Wagner, G., 1998. Studies on the effect of infection by *Babesia* sp. on oviposition of *Boophilus microplus* engorged females naturally infected in the Mexican tropics. Veterinary Parasitology 78, 253-257.

de la Fuente, J., Antunes, S., Bonnet, S., Cabezas-Cruz, A., Domingos, A., Kocan, K., 2017. Tick-Pathogen Interactions and Vector Competence: Identification of Molecular Drivers for Tick-borne Diseases. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology 7(114).

Giles, J., Peterson, A., Busch, J., Olafson, P., Scoles, G., Davey, R., Pound, J., Kammlah, D., Lohmeyer, K., Wagner, D., 2014. Invasive potential of cattle fever ticks in the southern United States. Parasites & Vectors 7-189.

Gordis, L., 2008. Chapter 3. Measuring the occurrence of disease: I. Mobility. En: Epidemiology. Fourth Edition. Saunders Elsevier. pp. 37-56.

Guglielmone, A., 1995. Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America. Veterinary Parasitology 57(1-3), 109-119.

Jaimes-Dueñez, J., Triana-Chávez, O., Mejía-Jaramillo, A., 2017. Parasitological and molecular surveys reveal high rates of infection with vector-borne pathogens and clinical anemia signs associated with infection in cattle from two important livestock areas in Colombia. Ticks and Tick-borne Diseases 8, 290-299.

Karpathy, S., Slater, S., Goldsmith, C., Nicholson, W., Paddock, C., 2016. *Rickettsia amblyommatis* sp. nov., a spotted fever group *Rickettsia* associated with multiple species of *Amblyomma* ticks in North, Central and South America. International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology 66, 5236-5243.

Labruna, M., Whitworth, T., Horta, M., Bouyer, D., McBride, J., Pinter, A., Popov, V., Gennari, S., Walker, D., 2004. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the state of São Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. Journal of Clinical Microbiology 42(1), 8-90.

Lew-Tabor, A., Rodríguez, M., 2016. A review of reverse vaccinology approaches for the development of vaccines against tick and tick borne diseases. *Tick and Tick-borne Diseases* 7(4), 573-585. doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.12012

Levin, M., Schumacher, L., Snellgrove, A., 2018. Efectos de la infección por *Rickettsia amblyommatis* en la competencia vectorial de las garrapatas *Amblyomma americanum* para *Rickettsia rickettsii*. *Vector borne of Zoonotic Diseases* 18(11), 579-587.

Localio, A., Margolis, D., Berlin, J., 2007. Relative risks and confidence intervals were easily computed indirectly from multivariable logistic regression. *Journal of Clinical Epidemiology* 60, 874-882. doi.org/10.1016/j.jclinepi.2006.12.001

Lopes, G., Muñoz-Leal, S., Ribeiro de Lima, J., Acosta, L., 2018. Ticks, rickettsial and ehrlichial infection in small mammals from Atlantic forest remnants in northeastern Brazil. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 7(3), 380-385.

Marques, K., Miraglia, H., Lopes, F., Borges, F., Fernandes, T., Bahia, M., Rogério, M., 2018. *Rickettsia* spp. among wild mammals and their respective ectoparasites in Pantanal wetland, Brazil, *Ticks and Tick-borne Diseases* 9(1), 10-17.

Mateus, G., 1990. Epidemiología de la babesiosis bovina. Seminario internacional sobre: diagnóstico, epidemiología y control de enfermedades hemoparasitarias. pp. 16-67.

Narasimhan, S., Rajeevan, N., Liu, L., Zhao, Y., 2014. Gut microbiota of the tick vector *Ixodes scapularis* modulate, colonization of the Lyme disease spirochete. *Cell Host & Microbe*. 15, 58-71.

OIE. World Organization for Animal Health., 2009. Heartwater. Cowdriosis. OIE. pp. 1-8.

Omar, R., Thompson, S., 2000. Analysis of a cluster randomized trial with binary outcome data using a multilevel model. *Statistics in Medicine* 19, 2675-2688. doi.org/10.1002/1097-0258(20001015)

Parra, J., Vargas, O., Holguín, E., Méndez, F., Villar, C., 2003. Capítulo III. Salud animal. En: Cuantificación e impacto de las principales causas de morbilidad y mortalidad en bovinos del sistema de producción cría en la sabana inundable. Corpoica-Gobernación de Arauca. pp. 71-72.

Pupin, C., de Castro, C., Amaral de Lemos, R., Beck, T., de Almeida, F., Gonçalves, D., Borges, D., 2018. Retrospective study of epidemiological, clinical and

pathological findings of bovine babesiosis in Mato Grosso do Sul, Brazil (1995-2017). Ticks and Tick-borne Diseases 1-7. doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.08.015

Quintero, J., Aguirre-Acevedo, D., Rodas, J., Arboleda, M., Troyo, A., 2018. Epidemiological characterization of incident cases of *Rickettsia* infection in rural areas of Urabá region, Colombia. PLOS Neglected Tropical Diseases 12(10), 1-16. doi.org/10.1371/journal.pntd.0006911

Regnery, R., Spruill, C., Plikaytis, B., 1991. Genotypic identification of rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. Journal of Bacteriology 173(5), 89-1576.

Ríos, L., Zapata, R., Reyes, J., Mejía, J., Baena, A., 2010. Estabilidad enzoótica de babesiosis bovina en la región de Puerto Berrío, Colombia. Revista Científica, FCV-LUZ 20(5), 485-492.

Sajid, M., Iqbal, Z., Shamim, A., Siddique, R., Jawad, M., Hassan, U., Rizwan, H., 2017. Distribution and abundance of ticks infesting livestock population along Karakorum from mansehra to gilgat, Pakistan. Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society 1, 81-88.

SAS, 2016. Software 9.04.01. North Caroline, USA.

Schnittger, L., Rodriguez, A., Florin-Christensen, M., Morrison, D., 2012. *Babesia*: a world emerging. Infect Genet Evol 12, 1788-1809.

Valli, V., Kiupel, M., Bienzle, D., 2017. Hematopoietic system. In: 6th edition. In: Maxie, M. Editor, Kennedy, J. Pathology of Domestic Animals 3. Elsevier, St. Louis. pp. 117-120.

Woolley, A., Montgomery, M., Savage, W., Achebe, M., Dunford, K. Villeda, S., Maguire, J., Marty, F., 2017. Post-babesiosis warm autoimmune hemolytic anemia. New England Journal of Medicine 376, 939-946. doi.10.1056/NEJMoa1612165

Zintl, A., Gray, J., Skerrett, H., Mulcahy, G., 2005. Possible mechanisms underlying age-related resistance to bovine babesiosis. Parasite Immunology 27(4), 115-120.

4. Resistencia a acaricidas y estrategias de manejo y control para la infestación por garrapatas en el departamento de Arauca, Colombia

4.1 Resumen

El uso de acaricidas sintéticos es el principal método de control para las garrapatas en todo el mundo, por lo que es imperativo introducir técnicas y un manejo de control eficiente que no aceleren la resistencia por parte de las garrapatas. El objetivo de la siguiente investigación fue establecer el grado de resistencia a acaricidas por parte de *Rh. (B.) microplus* en el departamento de Arauca, mediante la prueba de AIT y la caracterización mediante PCR-RFLP para investigar la presencia de una mutación de carboxilesterasa asociados a la resistencia a piretroides e identificar las estrategias de control aplicables a los sistemas pecuarios del departamento. El principal método de control fue el químico (85,1%), siendo la Cipermetrina (15%) (47,6%) la molécula química de mayor uso y distribución. La frecuencia de aplicación fue mensual (31,8%: n = 20/63 fincas) y el cambio de cada producto acaricida lo realizán anualmente (25,6%). Los gastos económicos por el uso de los químicos al año por productor en promedio fueron COP \$ 282.027, en 29 baños y cada baño para 71 bovinos. Los resultados de AIT mostraron que el acaricida que presentó una eficacia del 100% fue el Etión (622 ppm). Los piretroides empleados, evidenciaron la eficacia más baja (entre el 10% y 20%), siendo la Deltametrina la que menor eficacia presentó, con el 10%. La PCR-RFLP reveló una combinación de genotipos homocigotos de tipo salvaje (n = 6) y heterocigotos (n = 4). Es necesario desarrollar prácticas con respecto al uso del Etión como el único acaricida que en la actualidad ofrece la eficacia total. Los 63 productores deben introducir otras alternativas de control como el MIG, teniendo en cuenta aspectos como las condiciones ambientales, el manejo, las instalaciones o tipologías productivas y raciales de cada sistema de producción ganadero en el departamento de Arauca.

Palabras claves: Bovino, control, genotipos, moléculas químicas, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, Orinoquía.

4.2 Resumo

O uso de acaricidas sintéticos é o principal método de controle de carrapatos em todo o mundo, por isso é imperativo introduzir técnicas e um gerenciamento de controle eficiente que não acelere a resistência por carrapatos. O objetivo da investigação a seguir foi estabelecer o grau de resistência aos acaricidas por *Rh. (B.) microplus* no departamento de Arauca, através do teste AIT e caracterização por PCR-RFLP para investigar a presença de uma mutação carboxilesterase associada à resistência a piretróides e identificar estratégias de controle aplicáveis aos sistemas de criação de animais na departamento. O principal método de controle foi o químico (85,1%), sendo a cipermetrina (15%) (47,6%) a molécula química com maior uso e distribuição. A frequência de aplicação foi mensal (31,8%: n = 20/63 fazendas) e a troca de cada produto acaricida será realizada anualmente (25,6%). As despesas econômicas com o uso de produtos químicos por ano e por produtor foram em média COP \$ 282.027, em 29 banheiros e cada banheiro para 71 bovinos. Os resultados da AIT mostraram que o acaricida que apresentou 100% de eficácia foi Etion (622 ppm). Os piretróides utilizados apresentaram a menor eficácia (entre 10% e 20%), sendo a Deltametrina a menos eficaz, com 10%. O PCR-RFLP revelou uma combinação de genótipos homozigotos do tipo selvagem (n = 6) e heterozigotos (n = 4). É necessário desenvolver práticas relacionadas ao uso de Ethion como o único acaricida que atualmente oferece eficácia total. Os 63 produtores devem introduzir outras alternativas de controle, como a MIG, levando em consideração aspectos como condições ambientais, manejo, instalações e tipologias produtivas e raciais de cada sistema de produção pecuária no departamento de Arauca.

Palavras-chave: Bovinos, controle, genótipos, moléculas químicas, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, Orinoquía.

4.3 Abstract

The use of synthetic acaricides is the main control method for ticks worldwide, so it is imperative to introduce techniques and efficient control management that prevent resistance increase on the part of ticks. The objective of the following investigation was to establish the degree of resistance to acaricides by *Rh. (B.) microplus* in the department of Arauca, through the AIT test and characterization by PCR-RFLP to investigate the presence of a carboxylesterase mutation associated with pyrethroid resistance and identify control strategies applicable to livestock systems in the Department. The main control method was the chemical (85.1%), with Cypermethrin (15%) (47.6%) being the chemical molecule with the greatest use and distribution. The frequency of application was monthly (31.8%: n = 20/63 farms) and the change of each acaricidal product will be carried out annually (25.6%). The economic expenses for the use of chemicals per year per producer on average were COP \$ 282,027, in 29 bathrooms and each bathroom for 71 cattle. The AIT results showed that the acaricide that presented 100% efficacy was Eton (622 ppm). The pyrethroids used showed the lowest efficacy (between 10% and 20%), with Deltamethrin being the least effective, with 10%. The PCR-RFLP revealed a combination of homozygous wild-type (n = 6) and heterozygous (n = 4) genotypes. It is necessary to develop practices regarding the use of Ethion as the only acaricide that currently offers total effectiveness. The 63 producers must introduce other control alternatives such as MIG, taking into account aspects such as environmental conditions, management, facilities and productive and racial typologies of each livestock production system in the department of Arauca.

Keywords: Bovine, control, genotypes, chemical molecules, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, Orinoquía.

4.4 Introducción

Las garrapatas son los ectoparásitos más importantes económicamente en la industria ganadera, siendo *Rh. (B.) microplus* la especie de mayor distribución en el mundo (Higa *et al.*, 2016). Los programas de control de garrapatas se basan principalmente en el uso de acaricidas disponibles comercialmente (McTier *et al.*, 2016; Puerta *et al.*, 2015). Aunado a esta problemática, en la actualidad se presenta la escasez de moléculas con nuevos mecanismos de acción disponibles en el mercado (Klafke *et al.*, 2017).

De acuerdo a datos de Markets and Markets (2018) se estima que el mercado global de los parasiticidas crecerá a una CAGR de 5,7% del 2015 al 2020, alcanzando USD \$ 8,9 billones para el 2019 y USD \$ 9,7 billones para el 2020. Estos acaricidas a menudo se administran con frecuencia y concentración incorrectas, causando toxicidad en el animal y contaminación ambiental, además, la presión de selección para la inminente aparición de resistencia a acaricidas por parte del ectoparásito (Soares *et al.*, 2012). Para superar parte de esta problemática, se requiere el desarrollo de nuevas alternativas efectivas y ecológicas de baja toxicidad para reemplazar los agentes sintéticos.

El control de las garrapatas se puede realizar mediante la integración de métodos químicos y biológicos, retardando la resistencia a acaricidas de moléculas tradicionales y de nueva generación. Entre estos, se encuentran los programas de MIP, los cuales son basados en el conocimiento de la biología y las dinámicas poblacionales de las garrapatas, tanto en fase parasítica y no parasítica (Walker *et al.*, 1988). En la actualidad, en el departamento de Arauca no se conoce información sobre el grado de resistencia a acaricidas de las especies de garrapatas, el manejo y los tipos de control en los sistemas de producción bovinos. Por esta razón, se aplicó inicialmente una encuesta epidemiológica de caracterización y se evaluó la eficacia *in vitro* de los siguientes acaricidas y potencializadores sinérgicos: Amitraz (12,5%), Cipermetrina (15%), Clorpirifós,

Deltametrina (2,5%), Etión (83%), Piperonil-Butóxido (potencializador sinérgico) y Triclorfón (99%). Con base a los resultados se procedió a establecer las estrategias de control más idóneas por tipología, municipio y subregión del departamento de Arauca, con el fin de disminuir el nivel de infestación de este ectoparásito y evitar el uso de prácticas anti sanitarias empleadas por parte de algunos propietarios y empleados objetos de esta investigación.

4.5 Materiales y métodos

Todos los procedimientos realizados a los bovinos se siguieron bajo las normas para la experimentación con animales del Comité de Bioética de la FMVZ, de la Universidad Nacional de Colombia (No CB-088-2015 del 25 de noviembre de 2015). Así como, el consentimiento de cada uno de los propietarios investigados para la toma de las muestras a los semovientes.

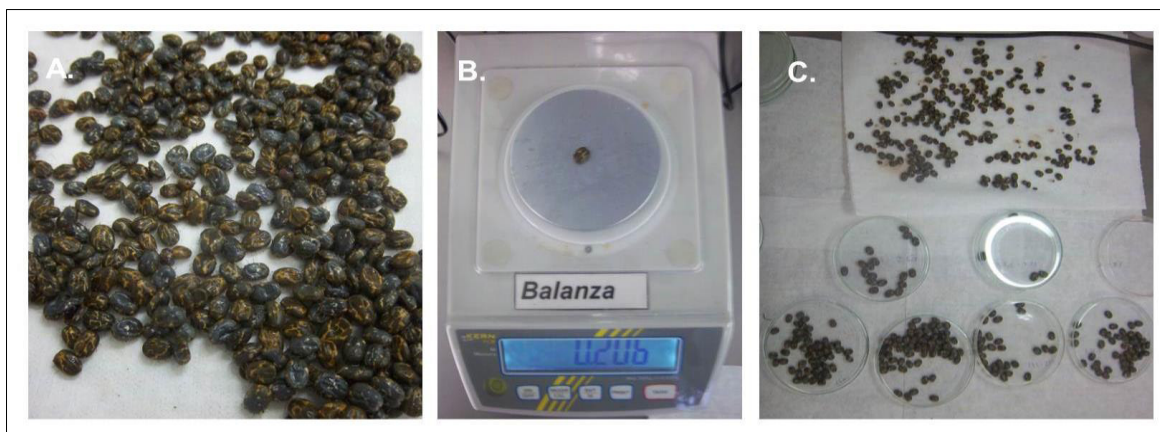
4.5.1 Evaluación de la eficacia de siete tipos de acaricidas a infestación de *Rh. (B.) microplus*

Se tomaron 1.687 teleoginas de *Rh. (B.) microplus* directamente de los bovinos infestados en el departamento de Arauca y se expusieron de forma *in vitro* a las siguientes moléculas químicas: Amitraz (12,5%), Cipermetrina, Clorpirifós, Deltametrina (2,5%), Etión (83%) y Triclorfón (99%), las cuales son usadas frecuentemente por los propietarios de los bovinos estudiados, lo anterior, con el fin de determinar el grado de resistencia de esta especie de garrapata a las moléculas químicas.

Se empleó la prueba de inmersión de garrapatas adultas PIA, recomendada por la FAO (2004). Una vez en el laboratorio se procedió a lavar las garrapatas cuatro veces con agua destilada y se separó por grupos con base a su peso, incluyendo sólo las que tuviesen más de 100 mg, formando grupos que no fueran más de 25 mg de diferencia de peso (Figura 4-1). Se hicieron lotes de 40 garrapatas

balanceadas por peso para que la media y la desviación de cada grupo fuese lo más homogénea posible. De esta manera se corrigió el efecto que el peso de la garrapata tiene sobre el parámetro de fecundidad. Cada producto comercial empleado en este estudio se preparó a la dilución indicada en el inserto del fabricante en tubos falcón a un volumen final de 50 mL (Tabla 4-1).

Figura 4 - 1. Clasificación por peso de las teleoginas de *Rh. (B.) microplus*



A. Lavado de teleoginas, B. Pesaje de teleoginas y C. Clasificación por peso de las teleoginas a exponer a los productos químicos. Fuente: Original.

Tabla 4 - 1. Principios activos y concentraciones de acaricidas tópicos empleados para determinar el grado de resistencia de *Rh. (B.) microplus*

| Principio activo y concentración | Producto comercial (compañía) | Lote y fecha expiración | Concentración de exposición |
|-----------------------------------|--|-------------------------|-----------------------------|
| Deltametrina (2,5%) EC | Deltaforce (Tagros Chemical India Ltd. | 15T004 (05, 2018) | 25 ppm |
| Cipermetrina + Piperonil-butóxido | Tino (Provet S.A.S, Bogotá D.C. Colombia) | 8.52E+04 (05, 2017) | 150 ppm + 150 ppm |
| Amitraz (12,5%) | Triatox (Schering-Plough Animal Health, Baton Rouge) | 50520B (05, 2018) | 208 ppm |
| Etión (83%) | Dravafos (Genfar) | 5GEO126 (04, 2018) | 622 ppm |
| Clorpirifós + | | 2 | 312 ppm + 150 ppm |

| | | | | |
|------------------|---------------------------------|-------|--------------------|------------------|
| Cipermetrina | Impacto (Ourofino Animal Ltda.) | Saude | (06, 2017) | |
| Triclorfón (99%) | Neguvón (Bayer Colombia) | S.A., | LC007712 (08-2017) | 1% (=10.000 ppm) |

Fuente: Villar *et al.* (2016)

La exposición de cada lote de 40 garrapatas se realizó durante 5 minutos en continua agitación, después se secaron en papel filtro, se pesaron individualmente y pegaron en placas de Petri sobre una cinta doble-fase en grupos de 10 garrapatas por placa. Al cabo de 20 días de incubación a 27 °C y 95% de humedad relativa se procedió a pesar la masa de huevos de cada garrapata (12 mg = 300 huevos en promedio). Los huevos puestos por cada garrapata, se introdujeron a la incubadora en tubos vacutainers tapados con algodón para su posterior cálculo del porcentaje de eclosión. Los tubos se introdujeron de nuevo en la incubadora y mantuvieron por otros 20 días hasta que hubiese eclosionado. El cálculo de la eficacia de cada producto se realizó comparando los parámetros de fecundidad (masa de huevos/peso de hembra ingurgitada) y fertilidad (% de eclosión) de cada garrapata del grupo tratado con respecto al grupo control expuesto a agua destilada, de acuerdo a la formula propuesta por Villar *et al.* (2016). El porcentaje sobre el control se calculó de acuerdo a Drummond *et al.* (1973), en donde se evaluó el índice de reproducción del control menos el índice de reproducción de los tratados.

4.5.2 Amplificación del ADN de *Rh. (B.) microplus*

En tubos de 0.2 mL se añadió 2 µL de ADN confirmado de *Rh. (B.) microplus* presentes en el museo de Parasitología Veterinaria, de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia, que previamente había sido identificada mediante claves taxonómica propuesta por Mullen y Durden (2009) y como control negativo se agregó 2 µL de agua estéril. El Mix se realizó en un tubo eppendorf de 1.5 mL y se preparó a un volumen acumulado suficiente para un número total de 27 muestras procesadas, para ello se calculó el volumen requerido para una sola

muestra: Buffer KCl: 2.5 µL, dNTPs: 0.5 µL, Forward: 1 µL Reverse: 1 µL, MgCl₂: 2 µL, Tap polimerasa: 1 µL, H₂O: 16 µL y Muestra de ADN: 1 µL. Luego se mezcló el Mix de PCR en un tubo eppendorf de 1,5 mL, se realizó vórtex durante 15 segundos. Se transfirió 48 µL del Mix de amplificación acumulado a cada tubo de PCR, obteniendo un total de 50 µL (2 µL de ADN más 48 µL del Mix). El ciclaje se realizó en un equipo termociclador T3 Thermocycler®, el cual se programó de la siguiente forma: 1. Pre-desnaturalización: 5 minutos, 95 °C y 1 repetición. 2. Amplificación: 1 minuto, 95 °C y 38 repeticiones, y 3. Extensión final: 5 minutos, 72 °C y 2 repeticiones. La electroforesis se realizó de acuerdo a las recomendaciones del fabricante del gel Agarose I™. Para la preparación del gel, se utilizó un peine adecuado para el número de muestras a correr. En la preparación del gel se añadió 0,5 gr de agarosa en 50 mL de TAE 1X.

4.5.3 PCR-RFLP a partir del ADN amplificado de *Rh. (B.) microplus*

Se identificó el gen de carboxilesterasa, el cual es uno de los mecanismos de resistencia que presenta *Rh. (B.) microplus* en contra de algunas moléculas químicas comerciales (Baffi *et al.*, 2007). Para ello, se extrajo ADN genómico con éxito a 30 hembras adultas después de una oviposición de 20 días y siguiendo las instrucciones de un kit de extracción comercial (DNeasy Blood and Tissue Kit, QIAGEN). El procedimiento descrito por Baffi *et al.* (2007) se siguió para la PCR y posteriormente para RFLP. Se utilizaron los oligonucleótidos F: AGCATCGACCTCTCGTCCAAC (GS138B) y R: GTCGGCATACTTGTCTTCGATG (GS139R) (Hernández *et al.*, 2002) que corresponden a un fragmento de 372 pb diseñado para la amplificación parcial del gen de la esterasa, este fragmento incluye el polimorfismo en el nucleótido 1120 que es reconocido por EcoRI.

La especificidad de los iniciadores se evaluaron en la herramienta informática BLAST, que para este caso, correspondió al 100% para la carboxilesterasa de *Rh. (B.) microplus*. La PCR se llevó a cabo en un termociclador Rotor-Gene Q Qiagen.

La mezcla de reacción contenía tampón de PCR (1X), MgCl₂ (1.5 mM), dNTPs (200 M cada uno), Taq-ADN-polimerasa (1 unidad), 1 mezcla de cebadores (4 pmol cada uno), ADN (100 ng) y H₂O ultrapuro, en un volumen final de 20 µL por reacción. El termociclador se programó para 5 min de desnaturalización a 95 °C, luego 38 ciclos de 95 °C durante 1 min, a 60 °C durante 1 min y extensión a 72 °C durante 1 min, seguido de una extensión final a 72 °C durante 2 min. Los productos de la PCR se digirieron durante 3 horas a 37 °C con la endonucleasa de restricción EcoR I (1 unidad por reacción) utilizando 10 µL del producto de la PCR final por muestra. Finalmente, los productos digeridos se separaron por electroforesis en un gel de agarosa al 2,5% y se visualizaron mediante tinción con bromuro de etidio (Hernández *et al.*, 2002).

4.5.4 Análisis estadístico

Para valorar si existía diferencia significativa de cada parámetro reproductivo (masa de huevos, fecundidad, fertilidad e índice de reproducción) con respecto al grupo control se hizo un análisis de Kruskal-Wallis usando el paquete estadístico SPSS V-17. Asimismo, la información colectada en la encuesta epidemiológica se tabuló y procesó empleando Microsoft Excel V-2010, SPSS V-17. Con esta herramienta se desarrollaron las tablas y gráficas dinámicas relacionadas al nivel de resistencia de las garrapatas en el departamento de Arauca.

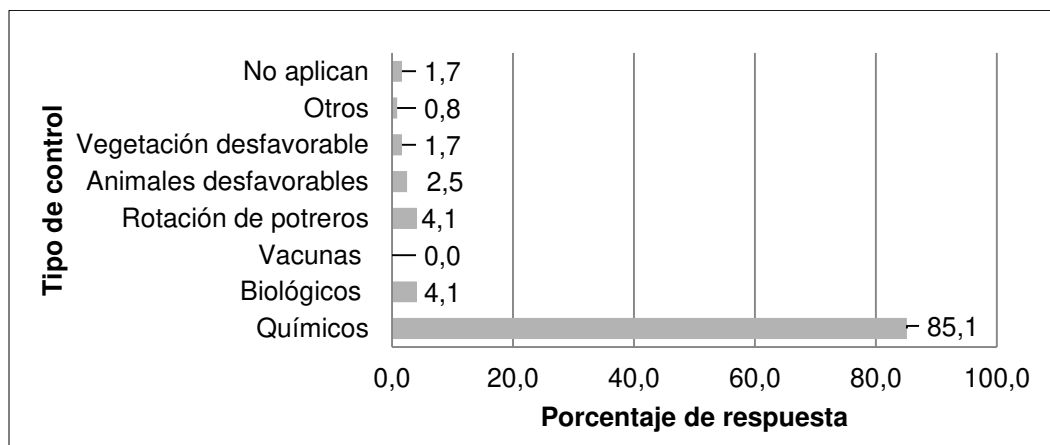
4.6 Resultados

4.6.1 Métodos de control empleados en el departamento de Arauca

El 44,7% (n = 38) de las personas encuestadas, deciden aplicar algún tratamiento para el control de garrapatas cuando el nivel de infestación es superior a las 500 garrapatas, seguido por infestación medianas (40 a 200 garrapatas) con el 29,4% (n = 25) y 2,4% (n = 2) personas indican que nunca han realizado baño para el

control de garrapatas. El principal método empleado para controlar las garrapatas en los bovinos en los predios estudiados es el químico con el 85,1%, seguido por el control biológico con el 4,1% (presencia de ovinos: $n = 3/63$ predios), rotación de potreros con el 4,1% y especies de animales desfavorables con el 2,5% (Figura 4-2). El principio activo de los productos químicos de mayor uso fue para la Cipermetrina (15%), con el 47,6% ($n = 49$), Amitraz (12,5%), con el 15,5% ($n = 16$) y Deltametrina (2,5%), con el 10,7% ($n = 11$) (Tabla 4-2). En dos predios se identificó la utilización de productos químicos no recetados para el control de las garrapatas, como la Cipermetrina Agrícola (20%), la cual es empleada para el control de insectos en las plantas. También, se registró a un productor que uso pilas alcalinas (Zinc pulverizado, MnO_2 , KOH) combinadas con Cipermetrina (15%).

Figura 4 - 2. Tipo de control empleado por parte de los productores en las fincas del estudio en el departamento de Arauca



Fuente: Original.

Tabla 4 - 2. Principio activo de los químicos empleados por parte de los productores del estudio en el departamento de Arauca

| Principio activo/concentración | Grupo químico | Porcentaje (%) |
|--------------------------------|-----------------|----------------|
| Amitraz (12,5%) | Amidina | 15,4 |
| Cipermetrina (15%) | Piretroide | 47,1 |
| Cipermetrina (20%) | Piretroide | 1 |
| Deltametrina (2,5%) | Piretroide | 10,6 |
| Etión | Órganofosforado | 6,7 |
| Fluazurón (2,5%) | Benzoilúreas | 2,9 |
| Flumethrina | Piretroide | 1 |
| Ivermectina (1%) | Lactonas | 4,8 |
| Ivermectina (3,15%) | Lactonas | 6,7 |
| Ivermectina (10%) | Lactonas | 1 |
| Metrifonato (97 mg) | Órganofosforado | 2,9 |
| Total | | 100 |

Fuente: Original.

4.6.2 Frecuencia y costos de tratamientos para el control de las garrapatas

Se observó que el 31,8% de los productores aplican mensualmente productos químicos para controlar las garrapatas, seguido por el 22,7% con una frecuencia quincenal y el 9,1% lo usan cada dos meses. Dos productores afirman nunca han haber requerido aplicar acaricidas para controlar las garrapatas en la unidades experimentales. Entre tanto, el tiempo de frecuencia de cambio de los productos químicos utilizados por los productores es anual (25,6%), seguido por cada tres meses (23,3%). Cuatro de los entrevistados informan que lo hacen cada 15 días.

Los gastos económicos en que incurrieron los productores solo por el uso de los productos químicos para el control de las garrapatas en cada predio investigado fue en promedio de COP \$ 282.027, en 29 baños y cada baño alcanza para una faena de 71 bovinos. (Tabla 4-3). El valor más elevado registrado para la compra

de un producto químico fue de COP \$ 160.000 en el municipio de Arauquita y el de menor valor económico fue de COP \$ 15.000 en los municipios de Cravo Norte y Saravena. El valor económico varió de acuerdo al laboratorio, principio activo, concentración, contenido y país de procedencia; este último proveniente en forma de contrabando de la República Bolivariana de Venezuela.

Tabla 4 - 3. Variación de los costos económico de los acaricidas empleados para el control de las garrapatas en el departamento de Arauca

| Costo producto COP \$ | No de predios | No de baños /año/predio | No \bar{X} baños/año/predio | \$ \bar{X} baño/año/predio | \$ \bar{X} acaricidas/año/predio |
|--------------------------|------------------|----------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|
| 15.000-40.000 | 23 | 89 | 4 | 30.761 | 119.032 |
| 40.001-60.000 | 20 | 129 | 6 | 52.300 | 337.335 |
| 60.001-80.000 | 11 | 74 | 7 | 86.091 | 579.158 |
| 80.001-160.000 | 7 | 26 | 12 | 112.875 | 1.354.500 |
| Total | 61 | 318 | 29 | 282.027 | 2.390.024 |

\bar{X} : Promedio. Fuente: Original.

El 100% de los productores ganaderos sólo realizan el control de las garrapatas en la fase parasítica, siendo nulo el control en la fase no parasítica. El 42,9% (n = 27/63) de los productores realizan el control principalmente al lote de bovinos de ordeño. Se registró que el baño lo aplican para controlar garrapatas (50,6%), moscas (44,4%) y para controlar los dos ectoparásitos (5%). Los baños lo realizan mediante la ayuda de bomba de motor 62,9% y bomba manual 31,9%. Solo tres productores informan realizar el control de forma inyectable (Ivermectina 3,15%). El 60,7% de los encuestados acuden al vendedor del almacén agropecuario para realizar la compra de los acaricidas, mientras que el 27,7% acuden a un Médico Veterinario, el 7,1% lo hacen por sí mismos, de acuerdo a la experiencia con cada producto químico y el 4,5% solicitan asesoría a los vecinos.

4.6.3 Eficacia *in vitro* a acaricidas tópicos en el departamento de Arauca

El acaricida tópico que presento una eficacia del 100% contra de *Rh. (B.) microplus* fue el Etión (622 ppm) en la subregión de Sabana Inundable y una eficacia del 99,8% para la subregión del Piedemonte Llanero de departamento de Arauca. El segundo acaricida con mayor eficacia fue para Clorpirifós (622 ppm) más Cipermetrina (15%) (187 ppm) con el 93,1% para las garrapatas obtenidas de la subregión de Sabana Inundable y del 65% para las garrapatas obtenidas de la subregión de Piedemonte Llanero (Tabla 4-4). Los productos que más letalidad produjeron fueron los que contenían alguno de tres compuestos Órganofosforados (Etión, Clorpirifós o Triclorfón).

Tabla 4 - 4. Porcentaje de eficacia de las moléculas químicas para controlar *Rh. (B.) microplus* en el departamento de Arauca

| Subregión | Eficacia acaricida | | | | |
|--------------------|--------------------|--------------------------------|--|-----------------|-----------------|
| | Amitraz (208 ppm) | Deltametrina (25 ppm y 50 ppm) | Clorpirifós (312 ppm) + Cipermetrina (187 ppm) | Etión (622 ppm) | Triclorfón (1%) |
| Sabana Inundable | 9,7% | 6,7% (25 ppm) 9% (50 ppm) | 93,1% [88%]* | 100% | 46,4% |
| Piedemonte Llanero | - | 22,8% (50 ppm) | 65% | 99,8% | 34,9% |

Eficacia: % control = $[(\Sigma \text{IR control} - \Sigma \text{IR tratados}) / \Sigma \text{IR control}] \times 100$. * Análisis repetido con garrapatas remitidas en una fecha posterior. Adaptado de Villar *et al.* (2016).

Se registró diferencia para la eficacia del Triclorfón entre el 46,4% y 34,9% en las dos subregiones. El Triclorfón fue el acaricida que tuvo más impacto sobre el parámetro de fertilidad de los huevos con una disminución de hasta el 50% de la eclosión con respecto al grupo control. Los dos piretroides empleados (Deltametrina y Cipermetrina) obtuvieron la eficacia más baja de todos los acaricidas. La Deltametrina perdió casi toda su eficacia, obteniendo un porcentaje

de eficacia entre el 10-20%. El Amitraz solo tuvo una eficacia del 9,7 % en la subregión de Sabana Inundable, para la subregión de Piedemonte Llanero la eficacia fue nula. La mezcla de Clorpirifós (312 ppm) con Cipermetrina (187 ppm) la eficacia fue más alta en la subregión de Sabana Inundable con el 93,1% frente a la subregión del Piedemonte Llanero, la cual presentó el 65%.

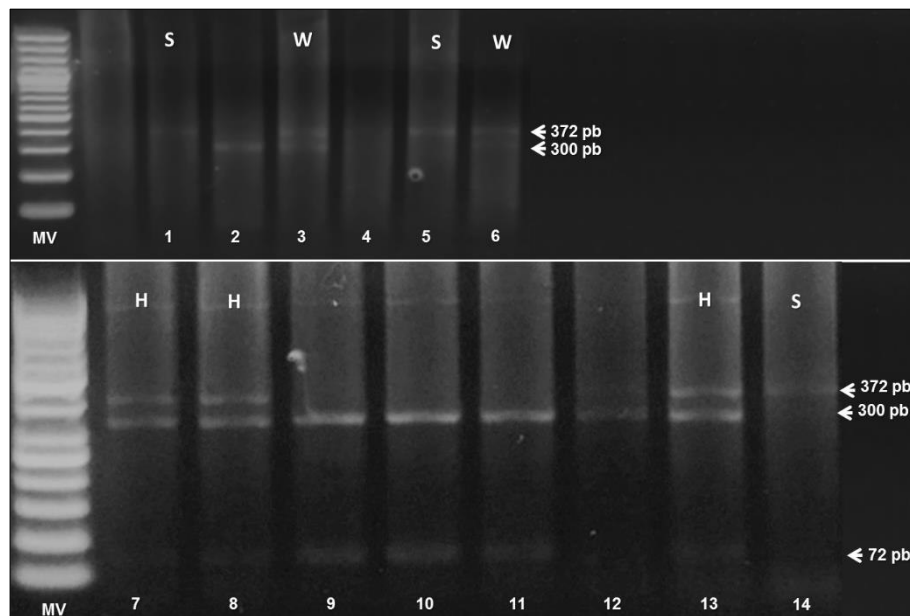
Los grupos controles expuestos al agua destilada tuvieron valores de los parámetros reproductivos similares a los esperados para la especie. La media del parámetro de fecundidad fue superior al 0,5% y la fertilidad se mantuvo entre 90% al 100% para las garrapatas controles. La repetición de exposiciones a garrapatas de la misma subregión en distintas ocasiones, mostró valores de eficacia muy similares para cada acaricida y sus asociaciones, con una variación entre el 5% al 10% en la mayoría de repeticiones. Esto no se cumplió para el caso de la exposición a Amitraz y la mayor variación pudo deberse a usar lotes de tan solo 15 y no de 40 garrapatas.

4.6.4 Determinación del grado de resistencia de *Rh. (B.) microplus* por métodos moleculares en el departamento de Arauca, mediante la digestión de la enzima *EcoRI*

Se obtuvo ADN amplificable en 14 de las 30 garrapatas resistentes seleccionadas al azar. Las garrapatas presentaron una oviposición normal y la tasa de eclosión también fue similar al grupo de control de garrapatas; por lo tanto, todas eran fenotípicamente resistentes a la Deltametrina. Se observaron tres patrones diferentes de los productos *EcoRI* digeridos después de la electroforesis en gel de agarosa de las garrapatas adultas (Figura 4-3). De las 14 garrapatas a las cuales se les realizó la PCR-RFLP, solo ocho expresaron uno de los tres genotipos de resistencia. El patrón que representa los alelos de esterasa de tipo Homocigoto tipo salvaje (S), las cuales mostraron una banda única de 372 pb (sin digestión) solo se observó en 3 de las 8 garrapatas. También, se identificaron 3 teleoginas de *Rh. (B.) microplus* de tipo Mutante (H), las cuales mostraron tres tipos de bandas 72, 300 y

372 pb y se identificaron 2 teleoginas con el genotipo Heterocigoto (W), las cuales mostraron dos bandas 300 y 372 pb (Figura 4-3). Las cepas de mayor aparición fueron las caracterizadas como resistentes con el 45,4%, seguido por las cepas intermedias con el 36,3% y las susceptibles con el 18,1%.

Figura 4 - 3. Fragmentos de restricción generados por la digestión con la enzima *EcoRI* en *Rh. (B.) microplus*



Marcador de peso molecular MW; 3 y 6 genotipo heterocigoto (372 y 300 pb) W; genotipo mutante 7, 8 y 13 homocigoto con tres bandas de (372, 300 y 72 pb) H y 1, 5 y 14 genotipo homocigoto de tipo salvaje (372 pb) S. Fuente: Original.

Las mutaciones del sitio objetivo en el canal de sodio son reguladas por los canales iónicos dependientes de voltaje, este mecanismo es el más reportado para conferir una resistencia muy alta (Guerrero *et al.*, 2012). Recientemente, Yessinous *et al.* (2016) describieron la coexistencia con las mutaciones del canal Na⁺ en *Rh. (B.) microplus* multirresistente de África occidental. Además, se ha demostrado que esta esterasa aumenta la resistencia a la Deltametrina en algunas cepas brasileñas (Baffi *et al.*, 2007) y mexicanas (Foil *et al.*, 2004).

En este estudio, se logró comprobar que el mecanismo principal de la resistencia se debe a un sitio objetivo del canal de sodio mutado, debido a que todas las garrapatas eran fenotípicamente resistentes. Se presentaron los tres tipos de resistencia en las dos subregiones del departamento de Arauca, sin embargo, el Piedemonte Llanero registró un 20% más que la Sabana Inundable (Tabla 4-5). Lo anterior, se pudo deber al poco cambio de las moléculas químicas, sobredosificación, abundancia de una molécula química con diferentes nombres comerciales y el desconocimiento de otras alternativas de control por parte de los productores estudiados. Esto pudo originar la presencia de diferentes mecanismos resistentes a los piretroides y las posibles mutaciones en el canal de sodio controlado por voltaje por parte de *Rh. (B.) microplus*.

Tabla 4 - 5. Genotipos de resistencia observados en *Rh. (B.) microplus*

| No | Tipo de genotipo de resistencia | No garrapatas (+) |
|-------|------------------------------------|-------------------|
| 1 | Heterocigoto W (300 y 372 pb) | 2 |
| 2 | Mutante H (72, 300 y 372 pb) | 3 |
| 3 | Homocigoto tipo salvaje S (372 pb) | 3 |
| Total | | 8 |

Fuente: Original.

4.6.5 Estrategias de manejo y control aplicables al departamento de Arauca

En la actualidad, las garrapatas han desarrollado resistencia a gran parte de las moléculas químicas existentes en el mercado. Los perjuicios que ocasionan en los sistemas de producción ganaderos y en la salud humana y animal, ha hecho necesaria la búsqueda permanente de medidas eficientes y nuevas alternativas de control. Los resultados obtenidos en esta investigación con la determinación del grado de resistencia de *Rh. (B.) microplus* a los principales acaricidas, hasta del

100% para algunas moléculas químicas presentes en la región y siendo esta especie la de mayor distribución en el departamento de Arauca (96,5%), se hace necesario el desarrollo de alternativas de control en donde se combinen de forma apropiada las herramientas de control para romper el equilibrio de las poblaciones de garrapatas. El manejo integral de garrapatas permite incluir prácticas como la selección de razas de bovinos resistentes, uso de extractos vegetales, manejo de pastos, vacunación (vacuna anti-garrapata) y control biológico (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2014; López *et al.*, 2013).

Para establecer el MIG que podría ser introducido de manera grupal o aislada en los 63 predios estudiados, se tuvo en cuenta la ubicación geográfica, las condiciones ambientales, el manejo, instalaciones o tipología productiva y racial de cada sistema de producción ganadero en el departamento de Arauca. Para ello se realizó una revisión sistemática de literatura de los diferentes métodos de manejo y control aplicables a esta región de Colombia.

4.6.5.1 Alteración del medio: Rotación de praderas

El sistema de rotación se basa en descansos obligados de las praderas con la finalidad de interrumpir el ciclo de vida en la fase larvaria de las garrapatas, esta interrupción del ciclo es generado por un aumento en el tiempo de encuentro entre la larva y el hospedador, permitiendo que el ectoparásito se vea sometido a cambios ambientales que pueden llevarlos a la desecación o muerte (Rosario *et al.*, 2014). El período de descanso varía su eficacia dependiendo del clima, época del año, suelo y topografía. Benavides (2007), en el departamento de Cundinamarca, recomienda un periodo de descanso de 42 días para las producciones ganaderas. Sin embargo, antes de realizar el periodo de descanso, es necesario conocer en cada sistemas de producción los períodos de oviposición, incubación y supervivencia de las larvas en las pasturas para así establecer el tiempo de descanso de las mismas (FAO, 2005). Es importante aclarar, que esta

práctica puede tener éxito para algunas especies del género *Rhipicephalus*, así mismo, el tiempo de descanso de las praderas pueden ser prolongadas, hasta de 180 días.

4.6.5.2 Alteración del medio: Arado y conservación de potreros

La utilización de implementos de labranza tales como arados o rastras en labores agrícolas conllevan a la modificación de las condiciones microclimáticas del suelo por un tiempo prudencial, a la vez que los cambios micro y mesoclimáticos en los nichos ecológicos de las garrapatas (Bazán, 2002). La variación del microhábitat puede influir sobre la dinámica poblacional, mediante una disminución de las garrapatas, debido a la exposición directa al medio ambiente de los estadios de vida libre y en especial de las larvas por la modificación del paisaje ecológico (Chi-Chien *et al.*, 2012). El corte de los pastos crea también un ambiente abierto y desprotegido contra los rayos solares para las garrapatas y en especial contra las larvas, lo que incrementa su mortalidad por efecto de la alteración del equilibrio electrolítico y en el gradiente de evapotranspiración (González, 1996). En situaciones extremas en que la contaminación de los potreros es muy alta y se tienen pastos como *Brachiaria* spp., se sugiere ararlos y prepararlos para regenerarlos anualmente, de tal manera que naturalmente desaparecerán las garrapatas. También, la combinación con otros cultivos, en las que acciones de labranza y fertilización previa para el cultivo pueden ser tóxicos para estos artrópodos (Pereira *et al.*, 2008).

4.6.6.1 Control biológico: Pastos anti-garrapata

Una vez que las larvas de las garrapatas emergen de los huevos, suben a las partes altas de las hojas de las plantas a fin de esperar al hospedador. Asimismo, ocurre con los estadios procedentes de la muda a ninfa y a adultos de *A. cajennense* s.l. (Figura 2-7). Dada la propiedad que poseen algunas plantas, bien para repeler las garrapatas como la leguminosa *Stylosanthes* spp. o para eliminar las garrapatas

tales como *Melinis minutiflora*, *Gynandropsis gynandra* y el árbol de Neem (*Azadirachta indica*) (Adenubi *et al.*, 2018), se espera una reducción de la población de garrapatas disponible para infestar al ganado, por lo que la incorporación de estos pastos y árboles adaptables para las condiciones ambientales del departamento de Arauca debe ser considerados en los planes de MIG.

4.6.6.2 Extractos vegetales

Charlie-Silva *et al.* (2018), estudiaron la planta *Artemisia annua* (familia Asteraceae), la cual se la suministraron a 20 bovinos a una dosis de 200 g/día (cada 100 g de materia seca contenía 0,96 g de Artemisinina) de hojas secas durante dos meses. Lograron controlar la infestación natural de *Rh. (B.) microplus* hasta en 23,4%. Entre tanto, Figueiredo *et al.* (2018), realizaron pruebas *in vitro* con aceites extraído de hojas de plantas *Ocotea elegans*, suministrados en larvas y teleoginas de *Rh. (B.) microplus* mediante prueba PIA. Obteniendo una mortalidad de 77,4% y una eficacia del 100%. La planta interfirió en la oviposición y en la eclosión. Estos resultados indican la reducción de la función reproductiva de las teleoginas. Gomes *et al.* (2014) identificaron 22 compuestos acaricidas obtenidos de la planta *Lippia sidoides*. Registraron una mortalidad para larvas y ninfas de *A. cajennense* s.l. de 41,9% y 100%. Concluyen que el aceite obtenido de *L. sidoides* tiene actividad acaricida en larvas no ingurgitadas y ninfas. Siendo esta planta una estrategia promisorio para el control de garrapatas en campo.

4.6.6.3 Control biológico: Hongos entomopatógenos

Diversos estudios han comprobado que el uso de hongos entomopatógenos causa la mortalidad de muchas especies de garrapatas y tienen eficacia sobre su reproducción (García-Corredor *et al.*, 2016). Esta estrategia requiere de una comprensión detallada de la dinámica del hospedador/garrapata y los efectos de las condiciones ambientales sobre esta interacción (Vidal y Fargues, 2007). Entre los géneros de hongos que infectan a la familia Ixodidae en la naturaleza se

encuentran *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* s.l., *Isaria farinosa*, *I. fumosorosea* y *Lecanicillium lecanii* (Webster *et al.*, 2015). Entre estos hongos, *B. bassiana* y *M. anisopliae* s.l. son los más estudiados, con resultados experimentales promisorios, considerándolos inocuos para el medio ambiente y la salud humana (Quinelato *et al.*, 2012).

La eficacia de estas dos especies de hongos se ha realizado en estudios *in vitro* e *in vivo* en diferentes partes del mundo. Camargo *et al.* (2017) emplearon hongos *M. anisopliae* s.l. mezclado con aceite mineral para controlar *Rh. (B.) microplus*. Obteniendo una eficacia hasta del 90,5%. En el departamento de Antioquia, López *et al.* (2006) evaluaron la capacidad biocontroladora de ocho cepas de *M. anisopliae* s.l. en estudios *in vitro* e *in vivo*, en donde lograron una eficacia en la capacidad reproductiva hasta del 96% *in vivo* e *in vitro* hasta del 75% en vacas mestizas con Holstein por cebú. También, Sepúlveda *et al.* (2017) en el departamento de Boyacá realizaron investigaciones sobre la eficiencia de las cepas BbF2011 de *C. bassiana* y MAF1309 de *M. anisopliae* s.l., en teleoginas de *Rh. (B.) microplus*. Logrando obtener una mortalidad hasta del 100%. También, Moncada (2015), en el departamento del Valle del Cauca, emplearon esporas de *B. bassiana* y *M. anisopliae* s.l. disuelta en agua (5 gr de concentración) aplicado en el pelo de bovinos, obteniendo un efecto negativo significativo ($p = 0.0165$) en la reproducción en campo de *Rh. (B.) microplus*, lo que indica que el uso de este acaropatógeno puede ser empleado como método de control en campo en el departamento de Arauca.

4.6.7.1 Control genético: Razas resistentes

La resistencia del hospedador a las garrapatas está bajo el control genético. La resistencia del ganado se debe a actitudes de comportamiento y reacciones inmunitarias que cada animal adquiere a medida que crece (Kunz y Kemp, 1994). La selección de los bovinos a través de la observación y descarte de los animales

que portan muchas garrapatas (animales "dulces") o a través del cruzamiento progresivo con razas tipo *Bos indicus*, pueden ser una herramienta de selección natural para aquellas razas y animales con mayor susceptibilidad a la presencia de las garrapatas y establecidas durante años en cada unidad de muestreo en el departamento de Arauca (Goddard y Hayes, 2009).

La resistencia de los bovinos se manifiesta, principalmente por el rechazo de las larvas en las primeras 24 h que no pueden adherirse y su remoción por el acicalamiento y lamido. Las razas criollas presentes en cada región de Colombia, pueden ser una opción favorables para la reducción de infestaciones, debido a que presentan habilidades innatas, asociadas a la longitud del pelo, espesor y dureza de la piel, secreción de las glándulas sebáceas y sudoríparas, movilidad de la piel y hábitos del animal anfitrión (Mapholi *et al.*, 2017). Las estimaciones de heredabilidad para la resistencia a las garrapatas varían de 0.05 a 0.42 al recuento de garrapatas (Porto-Neto *et al.*, 2014). Estos parámetros genéticos son un requisito previo para usar la selección para mejorar genéticamente cualquier rasgo de una raza a introducir. La inclusión de la resistencia genética del ganado a las garrapatas en los programas de selección representa un método auxiliar en el control estratégico de este parásito (Ayres *et al.*, 2013).

4.6.8.1 Control inmunológico: Vacunas

Las vacunas parecen ser una alternativa prometedora, ambientalmente racional y efectiva para el control de garrapatas y la transmisión de patógenos (de la Fuente y Contreras, 2015). Willadsen *et al.* (1989), identificaron y caracterizaron el antígeno recombinante Bm86 para controlar *Rh. (B.) microplus*. Recientemente el antígeno recombinante Bm95 (Kumar *et al.*, 2009). La mayoría de trabajos de vacunación hasta 1988 habían sido realizados a partir de glándulas salivales, homogenizados crudos de garrapatas completas y otros órganos internos. La

mayoría de los datos disponibles sobre la eficacia de la vacuna en condiciones de campo se han obtenido en bovinos (Sprong *et al.*, 2014).

Entre tanto, Acero *et al.* (2011), evaluaron la respuesta inmune en ganglios linfáticos bovinos y las alteraciones histológicas del intestino medio de *Rh. (B.) microplus* inducidas por dos péptidos recombinantes SBm7462[®], obteniendo como resultado que las teleoginas de *Rh. (B.) microplus* presentarían alteraciones en el epitelio intestinal. SBm7462[®] demostró una respuesta inmune moderada con esta especie de garrapata. Sin embargo, estas vacunas antivectoriales, dirigidas principalmente a los componentes de su saliva e intestino medio, solo han tenido esfuerzos al desarrollo de inmunizaciones específicas para cada especie de artrópodo. El avance se limita en descubrir una vacuna de amplio espectro, identificando y caracterizando antígenos protectores derivados de las garrapatas y hospedadores (de la Fuente y Merino, 2013). Mejía *et al.* (2006) sugirieron que podría desarrollarse una vacuna pan-artrópoda, con glicanos enlazados en N y O, los cuales están unidos a glicoproteínas, siendo los candidatos al antígeno más probable en las siguientes décadas.

Cuba fabricó la vacuna recombinante Gavac', que permitió una reducción en un 60-70% en el uso de acaricidas con una eficacia integral del 61%. Actualmente esta vacuna ha sido mejorada, y se llama comercialmente Gavac plus (en Colombia se conoce con el nombre de Heber Tick[®]). En cuanto a Tick GARD[®] plus (vacuna australiana), se ha observado que la reducción de garrapatas llega hasta un 56%, y la reducción de la eficiencia reproductiva a un 72%), La vacuna Tick Vac[®] contra la garrapata *Rh. (B.) microplus*, a diferencia de las vacunas recombinantes, es de naturaleza multiproteica, y no se esperan de ella fallas en protección contra cepas heterólogas de *Rh. (B.) microplus* de otras latitudes (García-García *et al.*, 2000). En Colombia se ha observado una eficacia en el control reproductivo de las garrapatas de un 74-87% (Cassalett, 2011).

4.6.8.1 Otras alternativas: Feromonas

En la actualidad en diferentes países del mundo se están realizando investigaciones con diversas fuentes no tradicionales para controlar a las garrapatas, alternativas que podrán disminuir la presión de selección para el desarrollo de cepas de garrapatas resistentes (Veríssimo *et al.*, 2016). Métodos que se suman a los ya existentes, eliminando por completo la dependencia a los acaricidas de origen químico. Los dispositivos ecológicos para capturar garrapatas han sido utilizado por Allan *et al.* (2002), que incorporaron feromonas marcadas con Cipermetrina en el control de las etapas ambientales de *I. scapularis*.

Por su parte, Dhivya (2013) utilizó polímeros naturales como el alginato de calcio, quitosano y PCL para encapsular con éxito feromonas para el control de la garrapata *Rh. sanguineus*. Bhoopathy *et al.* (2014) utilizó el polímero natural quitosano para incorporar feromonas junto con Deltametrina, obteniendo una efectividad del 57%. Recientemente, Anish *et al.* (2017) crearon una trampa de feromonas compuestas por adenina, guanina y xantina, las cuales se encapsularon en nanopartículas, logrando que el 43% de *Rh. sanguineus* fueran atraídas por las feromonas. Las trampas con cebo de feromonas tienen un potencial a futuro, por lo cual se podrían introducir en esta región de Colombia.

4.6.8.2 Otras alternativas: Medicina homeopática

La homeopatía es un método terapéutico que emplea preparaciones de sustancias altamente diluidas. Es considerado seguro en el cual las formulaciones se basan en plantas o minerales (Ernst, 2011). Por ejemplo Figueiredo *et al.* (2018), evaluaron la eficacia de una preparación homeopática, formulada con 30 CH de teleoginas *Rh. (B.) microplus*, 30 CH de azufre y 99 CH de lactosa. Esta preparación la mezclaron a 30 kg de sal mineralizada (usada como vehículo) y se la suministraron a bovinos. Logrando una eficacia del 47,9% de mortalidad a los

dos primeros meses del tratamiento. Del mismo modo, Valente *et al.* (2017), evaluaron una formulación bioterapéutica de 6 CH a bovinos infestados con *Rh. (B.) microplus*, obteniendo una eficacia del 45,8% después de los 37 días de tratamiento. A nivel histológico, los ovarios de las teleoginas mostraron una desorganización del exocorion de ovocitos. Los resultados sugieren la inhibición de las larvas, la interferencia en la reproducción y las posibilidades futuras para el control ecológico de esta especie de garrapata.

4.7 Discusión

Se observó que el uso del acaricida Cipermetrina al 15% (47,1%) fue el de mayor uso y distribución en el departamento de Arauca, resultados similares fueron registrados por Cassalett *et al.* (2013), estudios realizados en los departamentos de Casanare y Meta de la misma región de la Orinoquia colombiana, registrando en un 48% de uso por parte de los productores ganaderos. Por otro lado, el intervalo de uso de los acaricidas por parte de los productores ganaderos del departamento de Arauca fue diferente a los registrados por Rodríguez y Betancourt (2013) y Cassalett *et al.* (2013) en los departamentos de Casanare, Cauca y Meta, en donde registraron 36 baños promedio al año, con intervalo de uso cada 10 días para el departamento de Casanare y Meta y 17 baños promedio al año, con intervalo de uso cada 21 días para el departamento del Cauca. Este resultado de intervalo de uso de los acaricidas, puede ser un indicador de los hallagos encontrados en la PIA y el genotipo de resistencia de la mutación puntual en el gen de la *Est9* de *Rh. (B.) microplus* en el departamento de Arauca.

La eficiencia del acaricida Amitraz evaluado a 208 ppm en este estudio fue menor (9,7%-0%) a los registrados por Puerta *et al.* (2015) y Lopez-Arias *et al.* (2014), en el departamento de Antioquía, en el donde evaluaron este acaricida a la misma concentración, obteniendo una eficacia baja del 20% y una eficacia medianamente alta con el 56% respectivamente. Del mismo modo, fue inferior a los resultados

observados por Araque *et al.* (2014) en cinco regiones de Colombia, en donde hallaron una eficacia alta del 97% a este acaricida. Resultados similares fueron descritos por Betancourt (1993) en estudios realizados en los departamentos de Caldas, Cauca, Tolima y Valle del Cauca en donde registró una eficacia alta del 99,6%. Estudios realizados a nivel de Suramérica demuestran resultados similares a los registrados en el departamento de Arauca, como los observados por Klafke *et al.* (2017) en Brasil, en donde obtuvieron una eficacia baja del 10,1%. Por su parte Cutullé *et al.* (2013), en Argentina, registraron una eficacia del 32,5% para este acaricida. Los anteriores resultados demuestran que el Amitraz ha perdido eficacia no sólo en el departamento de Arauca, sino también en algunos departamentos de Colombia y países de Suramérica.

El acaricida que obtuvo una eficacia alta para el departamento de Arauca, fue el Etión (622 ppm), el cual inhibió casi por completo la oviposición en todas las garrapatas analizadas, teniendo una eficacia del 100% para la Subregión de Sabana Inundable y del 99,8% para la Subregión de Piedemonte Llanero. Estos resultados fueron superiores a los registrados por Diaz-Rivera y Vallejo (2014) en el departamento del Tolima, en donde observaron una eficacia baja del 8,9% y medianamente alta del 62,2% para este acaricida. Así mismo, a los observados por Araque *et al.* (2014) en cinco regiones de Colombia, en donde obtuvieron una eficacia media del 52%. Por su parte, Cutullé *et al.* (2013), realizaron estudios en tres provincias de Argentina, en donde evaluaron este acaricida a una concentración menor del 400 ppm, obteniendo una eficacia del 32,5 al 90,6%.

Los anteriores hallazgos demuestran que el Etión presenta una alta eficacia durante los dos años estudiados, por lo cual es necesario desarrollar mejores prácticas con respecto al uso de este acaricida. No obstante, es importante anotar que si bien el Etión fue por primera vez registrado en EE-UU para uso agrícola y ganadero a finales de los 1950s, se cancelaron todos los permisos y la EPA americana prohibió su uso desde finales del año 2004 (EPA, 2004). Por último, en

general, la eficacia de los acaricidas piretroides (Deltametrina y Cipermetrina) fue la más baja de todos los acaricidas empleados y coincide con aquellos productos comerciales mencionados como ineficientes por los ganaderos.

Los resultados obtenidos en la determinación de la resistencia de la mutación puntual en el gen *Est9* de *Rh. (B.) microplus* en este estudio fueron similares a los registrados por Diaz-Rivera y Vallejo (2014) en el departamento del Tolima, en donde encontraron una resistencia de genotipo W (372 y 300 pb), obtuvieron un total de dos garrapatas positivas, así mismo, el genotipo H (372, 300 y 72 pb), obtuvieron un total de dos garrapatas positivas y el genotipo S (372 pb), obtuvieron un total de una garrapata positiva. En contraste, los resultados obtenidos en el departamento de Arauca, fueron superiores a los registrados por Hernández *et al.* (2002), en México, en cual obtuvieron un espécimen positivo por cada genotipo de resistencia.

4.8 Bibliografía

Adenubi, O., Ahmed, A., Fasina, F., McGaw, L., Eloff, J., Naidoo, V., 2018. Pesticidal plants as a possible alternative to synthetic acaricides in tick control: A systematic review and meta-analysis. *Industrial Crops and Products* 123(1), 779-806. doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.075

Allan, S., Sonenshine, D., Burrige, M., 2002. Tick pheromones and uses thereof. United States Patent Office Patent 6, 297-331.

Anish, R., Ravi, B., Ramanathan, G., Tirichuraoalli, U., Sreekumar, C., Leela, V., 2017. A novel assembly pheromone trap for tick control in dog kennels. *Veterinary Parasitology* 235, 57-63. doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.01.005

Araque, A., Ujueta, S., Bonilla, R., Gómez, D., Rivera, J., 2014. Resistencia a acaricidas en *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* de algunas explotaciones ganaderas de Colombia. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 17(1), 161-170,

Ayres, D., Pereira, R., Boligon, A., Silva, F., Schenkel, F., Roso, V., Albuquerque, L., 2013. Linear and poisson models for genetic evaluation of tick resistance in cross-bred Hereford x Nelore cattle. *Journal of Animal Breeding Genetics* 3(130), 417-424. doi.10.1111/jbg.12036

Baffi, M., Lino de Souza, G., Ueira, C., de Sousa, C., Gourelart, L., Bonetti, A., 2007. Identification of point mutations in a putative carboxylesterase and their association with acaricide resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology* 148(3-4), 301-309.

Bazán, M., 2002. Efecto de *Metarhizium anisopliae* (Deuteromicotina: Hyphomycetes) en el control biológico de *Boophilus microplus* Canestrini (Acari: Ixodidae) en ganado bovino estabulado. [Tesis de Maestría]. [Tecoman-Colima, España]. Universidad de Colima. pp. 23-91.

Benavides, E., 2007. Manejo integrado de plagas MIP y BPGs. Corpoica, RedEctopar. 12-19.

Betancourt, J.A., 1993. Susceptibilidad de varias cepas de *Boophilus microplus* a diferentes compuestos acaricidas. pp. 90.

Bhoopathy, D., Latha, B., Raja, M., Sreekumar, C., Leela, V., 2014. Control of brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* using assembly pheromone encapsulated in natural polymer, chitosan. *Experimental and Applied Acarology* 63(1), 85-92.

Cassalett, E., 2011. Reducción de la residualidad en leche de pesticidas químicos en bovinos del sistema doble propósito del Piedemonte Llanero, mediante validación de paquetes tecnológicos sostenibles para el control de dípteros-garrapatas. Informe final Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural-Corpoica. pp. 104.

Cassalett, E., Parra, J., Onofre, H., 2013. Boletín técnico diagnóstico, manejo, control integrado de ectoparásitos en bovinos doble propósito del Piedemonte Llanero. Corpoica. pp. 56.

Camargo, M., Nogueira, M., Camargo, M., Wendell, F., Perinotto, M., Coutinho-Rodrigues, C., Scott, S., Angelo, I., Prata, M., 2017. *Metarhizium anisopliae* for controlling *Rhipicephalus microplus* ticks under field conditions. *Vet. Parasitol.* 223(15), 38-42. doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.04.014

Cutullé, C., Lovis, L., D 'Agostino, Balbiani, G., Morici, G., Citroni, D., Reggi, J., 2013. *In vitro* diagnosis of the first case of amitraz resistance in *Rhipicephalus microplus* in Santo Tomé (Corrientes), Argentina. *Vet. Parasitol.* 192, 296-300.

Charlie-Silva, I., Giglioti, R., Magalhaes, P., Sousa, I., AnnFoglio, M., Oliveira, M., Chagas, A., 2018. Lack of impact of dietary inclusion of dried *Artemisia annua* leaves for cattle on infestation by *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tick. *Tick and Tick-borne Diseases* 9(5), 1115-1119.

Chi-Chien, K., Jing-Lun, H., Pei-Yun, S., Pei-Lung, L., Douglas, A., His-Chieh, W., 2012. Cascading effect of economic globalization on human risks of scrub typhus and tick-borne rickettsial diseases. *Ecological Society of America* 53-57.

de la Fuente, J., Merino, O., 2013. Vaccinomics, the new road to tick vaccines. *Vaccine* 31, 5923-5929.

de la Fuente, J., Contreras, M., 2015. Tick vaccines: current status and future directions. *Expert Review of Vaccines* 14, 1367-1376.

Díaz-Rivera, E., Vallejo, G., 2014. Determinación de una mutación puntual en el gen *Est9* de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistente a organofosforados. *Revista Colombiana de Ciencia Animal* 7(1), 14-19.

Dhivya, B., 2013. Semiochemical sustained release device for the control of dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. M.V.S.c., Thesis Submitted to Tamil Nadu Veterinary and Animal Sciences University, Chennai. pp.122.

EPA. Environmental Protection Agency of US., 2004. Pesticides: Reregistration. Ethion Red. pp. 2-7.

Ernst, E., 2011. 45-Complementary therapies in supportive oncology. Edited by: Mellar, P., Petra, D., Zimmerman, C. *Supportive Oncology*. Saunders. pp. 464-470. doi.org/10.1016/B978-1-4377-1015-1.00045-X

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations., 2005. Working group on parasite resistance. "Acaricide resistance: diagnosis, management and prevention", in *Guidelines for resistance management and integrated parasite control in ruminants*. pp. 25-77.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations., 2005. Integrated control programs for ticks on cattle: an examination of some possible components. pp. 61.

Figueiredo, A., Fantatto, R., Cabeça, I., Lopes, G., de Oliveira, P., Camargo, M., Alves, T., Barioni, V., de Souza, A., 2018. *In vivo* study of a homeopathic medicine against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in dairy cow. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 28(2), 207-213. doi.org/10.1016/j.bjp.2018.01.008

Foil, L., Coleman, P., Eisler, M., Fragoso-Sanchez, H., Garcia-Vazquez, Z., Guerrero, F., Jonsson, N., Langstaff, I., Li, A., Machila, N., Miller, R., Morton, J., Pruett, J., Torr, S., 2004. Factors that influence the prevalence of acaricide resistance and tick-borne diseases. *Vet. Parasitol.* 125, 163-181.

García-Corredor, D., Rodríguez-Vivas, R., Pulido-Medellín, M., Andrade-Becerra, R., Díaz-Anaya, A., 2016. Evaluación *in vitro* de *Cordyceps bassiana* (Ascomycota: Sordariomycetes) en el control biológico de *Rhipicephalus microplus*. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 27(1), 130-136.

García-García, J.C., Montero, C., Redondo, M., Vargas, M., Canales, M.O., Rodríguez, M., Joglar, M., Machado, H., González, L., Vattedds, M., Méndez, L., de la Fuente, J., 2000. Control of ticks resistant to immunization with Bm86 in cattle vaccinated with the recombinant antigen Brn95 isolated from the cattle tick, *Boophilus microplus*. Vaccine 18, 2275-2287.

Goddard, M., Hayes, B., 2009. Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programs. National Reviews Genetics 10, 381-391.

Gomes, G., Oliveira, C., de Santana, L., Maturano R., Oliveira, T., Zeringóta, V., Calmon, F., da Silva, R., Daemon, E., de Carvalho, M., 2014. Acaricidal activity of essential oil from *Lippia sidoides* on unengorged larvae and nymphs of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) and *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). Experimental Parasitology 137, 41-45. doi.org/10.1016/j.exppara.2013.12.003

González, M., 1996. Algunas observaciones sobre el comportamiento de la vacuna recombinante contra la garrapata *Boophilus microplus* y su participación en el control integrado del ectoparásito. [Tesis de Pregrado]. [Bogotá D.C. Colombia]. UNAL. pp. 117.

Guerrero, F., Lovis, L., Martins, J., 2012. Acaricide resistance mechanisms in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária 21(1), 1-6.

Hernández, R., Guerrero, F., George, J., Wagner, G., 2002. Allele frequency and gene expression of a putative carboxylesterase-encoding gene in a pyrethroid resistant strain of the tick *Boophilus microplus*. Insect Biochemistry and Molecular Biology 32, 1009-1016.

Kumar, A., Garg, R., Yadav, C., Vatsya, S., Kumar, R., Sugumar, P., Chandran, D., Mangamoorib, L., Bedarkar, S., 2009. Immune responses against recombinant tick antigen, Bm95, for the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks in cattle. Vet. Parasitol. 165, 119-124.

Kunz, S., Kemp, D., 1994. Insecticides and acaricides: resistance and environmental impact. Office International des epizooties. Revue Scientifique et Technique 13, 1249-1286.

Klafke, G., Webster, B., Pradel, E., Silva, J., de la Canal, L., Becker, M., Osorio, M., 2017. Multiple resistance to acaricides in field populations of *Rhipicephalus microplus* from Rio Grande do Sul state, Southern Brazil. Ticks and Tick-borne Diseases 8, 73-80.

López, E., López, G., Ordúz S., 2006. Control de la garrapata *Boophilus microplus* con el hongo *Metarhizium anisopliae*. Estudio de laboratorio y de campo. Revistas Colombiana de Entomología 35(1), 42-46.

López, G., Jimenez, J., Quiñones, W., Archbold, R., Torres, F., Echeverry, F., 2013. Pruebas de campo con productos naturales para el control de la garrapata del ganado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en: Echeverry, F. y Rossini, C. Editores: productos naturales contra parásitos externos del ganado bovino y ovino, tales como mosca de los cuernos y garrapatas. Edita Universidad de Magallanes. pp. 164.

Lopez-Arias, A., Villar-Argaiz, D., Chaparro-Gutierrez, J.J., M., Miller, R., Perez de Leon, A., 2015. Reduced efficacy of commercial acaricides against populations of resistant cattle tick *Rhipicephalus microplus* from two municipalities of Antioquia, Colombia. Environmental Health Insights 8(2), 71-79.

Mapholi, N., Maiwashe, A., Matika, O., Riggio, V., Banga, C., MacNeil, M., Dzama, K., 2017. Genetic parameters for tick counts across months for different tick species and anatomical locations in South African Nguni cattle. Tropical Animal Health and Production 49(6), 1201-1210. doi.org/10.1007/s11250-017-1336-2

Markets y Markets., 2018. Pharmaceuticals. Pharmaceuticals market research reports & consulting. Global Forecast to 2020. Report Code: PH 2460.

McTier, T., Chub, N., Curtis, M., Hedges, L., Inskeep, G., Knauer, C., Menon, S., Mills, B., Pullins, A., Zinser, E., 2016. Discovery of sarolaner: a novel, orally administered, broad-spectrum, isoxazoline ectoparasiticide for dogs. Vet. Parasitol. 222, 3-11.

Mejia, J., Bishop, J., Titus, R., 2006. Is it possible to develop pan-arthropod vaccines?. Trends in Parasitology 22(8), 367-370. doi.org/10.1016/j.pt.2006.06.001

Moncada, A., 2015. Valoración del uso combinado de vacunas y hongos acaropatógenos comerciales para el control de *Rhipicephalus microplus* en bovino. [Tesis de Maestría]. [Medellín. Colombia]. UdeA. pp. 74.

Porto-Neto, L., Reverter, A., Prayaga, K., Chan, Barendse, W., 2014. The genetic architecture of climatic adaptation of tropical cattle. Plos One 9, 113-118.

Puerta, J., Chaparro, J., López-Arias, A., Villar, D., 2015. Loss of *in vitro* efficacy of topical commercial acaricides on *Rhipicephalus microplus* from Antioquian farms, Colombia. Journal of Medical Entomology 1-6. doi.10.1093/jme/tjv129

Quinelato, S., Gôlo, P., Perinotto, W., Sá, F., Camargo, M., Angelo, I., Moraes, A., Bittencourt, V., 2012. Virulence potential of *Metarhizium anisopliae* s.l. isolates on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* larvae. Veterinay Parasitology 190(3-4), 556-65.

Rodriguez, C.E., Betancourt, J.A., 2013. Estudios sobre identificación y control de garrapatas de bovinos en el departamento del Cauca. Novedades Tecnicas 38-43.

Rodríguez-Vivas, R., Rosado-Aguilar, J., Ojeda-Chi, M., Pérez-Cogollo, L., Trinidad-Martínez, I., Bolio-González, M., 2014. Control integrado de garrapatas en la ganadería bovina. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 1(3), 295-308.

Sepúlveda, A., Pulido-Medellín, M., Rodríguez-Pacheco, J., García-Corredor, D., 2017. Eficiencia *in vitro* de hongos entomopatógenos y productos químicos sobre *Rhipicephalus microplus*. Revista Veterinaria y Zootecnia 11(2), 67-80. doi.10.17151/vetzo.2017.11.2.6

Soares, J., Soares, H., Barbieri, A., Labruna, M., 2012. Experimental infection of the tick *Amblyomma cajennense*, Cayenne tick, with *Rickettsia rickettsii*, the agent of Rocky Mountain spotted fever. Medical and Veterinary Entomology 26, 139-151.

Sprong, H., Trentelman, J., Seemann, I., Grubhoffer, Winter, B., Rotter, S., Havlíková, B., Klempa, T., Schetters, J., 2014. ANTIDotE: anti-tick vaccines to prevent tick-borne diseases in Europe. Parasites & Vectors 7, 77-89.

Valente, P., Amorim, J., Castilho, R., Leite, R., Ribeiro, M., 2014. *In vitro* acaricidal efficacy of plant extracts from Brazilian flora and isolated substances against *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). Parasitology Research 113, 417-423.

Veríssimo, C., Vasques, F., Duarte, K., Paulino, V., Ambrósio, L., 2016. Management and control of parasites on dairy farms in northwestern region of São Paulo state. Veterinary Parasitology 25, 306-316.

Vidal, C., Fargues, J., 2007. Climatic constraints for fungal biopesticides. Editors. Ekesi, S., Maniania, N. Use of entomopathogenic. Fungi in biological pest management, research signpost, Nairobi. pp. 39-55.

Villar, D., Gutiérrez, J., Piedrahita, D., Rodríguez-Durán, A., Cortés-Vecino, J.A., Góngora-Orjuela, A., Martínez, N., Chaparro-Gutiérrez, J.J., 2016a. Resistencia *in vitro* a acaricidas tópicos de poblaciones de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* provenientes de cuatro departamentos de Colombia. CES Medicina Veterinaria y Zootecnia 11(3), 58-70.

Webster, A., Reck, J., Santi, L., Souza, U., Dall, D., Klafke, G., Schrank, A., 2015. Integrated control on an acaricide-resistant strain of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* by applying *Metarhizium anisopliae* associated with Cypermethrin and Chlorpyrifos under field conditions. Veterinary Parasitology 20783(49), 302-308.

Willadsen, P., Riding, G., McKenna, R., 1989. Immunologic control of a parasite arthropod. Identification of a protective antigen from *Boophilus microplus*. Journal of Immunology 143, 1346-1351.

Yessinou, R., Akpo, Y., Sidick, A., Adoligbe, C., Karim, I., Akogbeto, M., Farougou, S., 2016. Evidence of multiple mechanisms of Alphacypermethrin and Deltamethin resistance in ticks *Rhipicephalus microplus* in Benin, West Africa. Ticks and Tick-borne Diseases 9, 665-671.

5. Conclusiones y Recomendaciones

5.1 Conclusiones

Se logró caracterizar 57.021 garrapatas en estado parasítico y no parasítico en el departamento de Arauca. La especie de mayor abundancia y distribución para ambas subregiones fue *Rh. (B.) microplus* (96,5%), al igual que en otras regiones de Colombia, esta especie es la de mayor prevalencia en el ganado bovino de esta zona. Se registró por primera vez la presencia de *Amblyomma* spp. (3,1%) infestando el ganado bovino. La cual se registró en cuatro de los siete municipios del departamento y se distribuyó en el 19% de las fincas (12/63). Siendo la subregión de Sabana Inundable en la cual se observaron el mayor número. El municipio de Arauca es en donde se registra el mayor número de garrapatas y el menor número es para el municipio de Fortul. Este es el primer estudio en el cual se identifica siete especies de garrapatas de los géneros de *Amblyomma* y *Rhipicephalus*.

A nivel epidemiológico, la tasa de incidencia para infestaciones de garrapatas fue del 5% para los bovinos y del 7,9% para las fincas estudiadas. La prevalencia de las garrapatas fue del 93,3% para los bovinos y del 100% para las fincas. También, se determinaron los factores de riesgo a la presencia de garrapatas en los bovinos estudiados, siendo la época climática de verano la de mayor presencia de garrapatas con 1.3 probabilidades a aumentar el número de garrapatas, frente a las demás épocas. El riesgo relativo a infestaciones de garrapatas por sexo de los bovinos investigados fue de una probabilidad más para las hembras, frente a los machos. Factor que se logró comprobar en la frecuencia de observación de las siete especies de garrapatas, en donde hubo un predominio de infestación para las hembras del 87,1% (n = 43.524). El principal método de control fue el químico (85,1%) y la Cipermetrina (15%) (47,6%) fue la molécula química de mayor uso y distribución. Los resultados de AIT mostraron que el acaricida que presento mayor eficacia fue el Etión (622 ppm) con una mortalidad del 100% mientras que los

Piretroides sintéticos y el Amitraz, mostraron una eficacia baja. Los resultados obtenidos de la PCR-RFLP demostraron una resistencia fenotípicamente a la Deltametrina. Se logró comprobar que el mecanismo principal de la resistencia se debe a la mutación en el canal de sodio mutado. Estos resultados complementan los informes de otras regiones de Colombia, donde existe una falta total de eficacia de los piretroides. Se caracterizaron ocho factores de riesgo a la presencia de las siete especies de garrapatas y de *Babesia* spp. en esta zona del país. De los patógenos que transmiten las garrapatas, se logró identificar por primera vez en el departamento la infección de *R. amblyommatis* identificada en *A. mixtum* colectada del ganado bovino. Este es el primer reporte epidemiológico en el cual se caracterizó la problemática de las garrapatas que infestan el ganado bovino en el departamento de Arauca.

5.2 Recomendaciones

Se deben realizar investigaciones específicas para los principales patógenos que transmiten las garrapatas, en especial para *Babesia* spp., ya que la situación epidemiológica es nula para la ganadería bovina de esta región del país. Asimismo, es necesario desarrollar mejores prácticas con respecto al uso del Etión como el único acaricida que en la actualidad ofrece la eficacia total para las dos subregiones que conforman el departamento de Arauca. Los 63 productores deben introducir otras alternativas de control como el MIG, teniendo en cuenta aspectos como las condiciones ambientales, el manejo, las instalaciones o tipologías productivas y raciales de cada sistema de producción ganadero en el departamento de Arauca. Los resultados obtenidos en esta investigación demostraron por primera vez la abundancia y caracterización de las garrapatas que infestan a los bovinos en los siete municipios que conforman las dos subregiones del departamento de Arauca, por lo cual proporciona información de base para crear un programa de control adaptado a las condiciones ambientales y de manejo propias de esta región de Colombia.

6. Difusión, divulgación y reconocimiento de resultados

6.1. Reconocimiento: A la ponencia oral titulada: Evaluación de la garrapata *Rhiphicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) en bovinos de la subregión de Sabana del departamento de Arauca, Colombia, la cual fue seleccionada como uno de los 10 mejores trabajos presentados en el VI Congreso Latinoamericano de Enfermedades Rickettsiales & I Encuentro de Ecología y Control de Ectoparásitos (ENICIP 2017), 01 al 02 de noviembre de 2017.

6.2. Publicación nacional: Artículo científico publicado en la revista científica indexada CES Medicina Veterinaria y Zootecnia.

- Modalidad: Artículo de investigación
- Título: Resistencia *in vitro* a acaricidas tópicos de poblaciones de garrapatas *Rhiphicephalus (Boophilus) microplus* provenientes de cuatro departamentos de Colombia
- Revista: CES Medicina Veterinaria y Zootecnia
- Año: 2016
- Número y volumen: 11(3)
- Páginas: 58-70
- ISSN: 1900-9607

6.3 Congreso internacional: VI Congreso Latinoamericano de Enfermedades Rickettsiales & I Encuentro de Ecología y Control de Ectoparásitos (ENICIP 2017), 01 al 02 de noviembre de 2017.

- Modalidad: Ponencia oral
- Título: Detecção molecular de *Rickettsia* spp em carrapatos *Amblyomma mixtum* do Departamento de Arauca, Colômbia
- Revista: Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias RCCP
- Año: 2017
- Número y volumen: 30(Supl)

- Páginas: 302
- ISSN: 1900-9607

6.4. Congreso internacional: VI Congreso Latinoamericano de Enfermedades Rickettsiales & I Encuentro de Ecología y Control de Ectoparásitos (ENICIP 2017), 01 al 02 de noviembre de 2017.

- Modalidad: Ponencia oral
- Título: Evaluación de la garrapata *Rhiphicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) en bovinos de la subregión de Sabana del departamento de Arauca, Colombia
- Revista: Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias RCCP
- Año: 2017
- Número y volumen: 30(Supl)
- Páginas: 313
- ISSN: 1900-9607

6.5. Congreso internacional: VI Congreso Latinoamericano de Enfermedades Rickettsiales & I Encuentro de Ecología y Control de Ectoparásitos (ENICIP 2017), 01 al 02 de noviembre de 2017.

- Modalidad: Póster
- Título: Prevalencia de *Rhiphicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) en bovinos de la subregión del Piedemonte Llanero del departamento de Arauca, Colombia
- Revista: Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias RCCP
- Año: 2017
- Número y volumen: 30(Supl)
- Páginas: 325
- ISSN: 1900-9607

6.6. Conferencia internacional: 27th Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP 2019), 07 al 11 de Julio de 2019.

- Modalidad: Póster
- Título: Resistance profile of the cattle fever tick, *Rhipicephalus microplus*, to acaricides in a farm from Arauca, Colombia.
- Año: 2019
- Número y volumen: Abstract Book. PS02.78
- Páginas: 274

6.7. Publicación internacional: Manuscrito científico sometido (27/05/2019) para la publicación en la revista científica indexada Journal and Medical Entomology.

- Modalidad: Artículo de investigación
- Título: Resistance profile of the cattle-fever tick *Rhipicephalus microplus* to acaricides in a farm from Arauca, Colombia
- Revista: Journal and Medical Entomology
- Año: 2019
- Número y volumen:
- Páginas:
- ISSN: 1938-2928

Selección de los 10 mejores trabajos Recibidos x

VI CLER . <vicleryecologia@gmail.com> 28 sept. 2017 11:51 ☆ ↩

para mí ▾

Cordial saludo Dr. Arlex Durán,

Acorde con la evaluación del Comité académico, su resumen titulado **Evaluación de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) en bovinos de la subregión de sabana del departamento de Arauca, Colombia** ha sido seleccionado como uno de los mejores trabajos y queda eximido del pago de inscripción.

Le recordamos igualmente realizar la inscripción por medio de la página:
<http://dynamicformswebinc.azurewebsites.net/formviewer/#!/page/formViewer/eb7ccbb6-a3a5-4c27-a600-d7beed36003c>

¡Muchas gracias por su participación!

VI Congreso Latinoamericano de Enfermedades Rickettsiales & I Encuentro de ecología y control de ectoparásitos
 Comité Organizador
 Medellín - Colombia
 2017

CES MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Artículo de investigación

***In vitro* resistance to topical acaricides of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* from four regions of Colombia**

David Villar¹ MV, PhD *CvLAC*, Jessed Gutiérrez¹ MV, Diego Piedrahita¹ MV, MSc, PhD *CvLAC*, Arlex Rodríguez-Durán² MVZ *CvLAC*, Jesús A. Cortés-Vecino² MV, MSc, PhD *CvLAC*, Agustín Góngora-Orjuela³ MV, MSc, PhD *CvLAC*, Nicolás Martínez⁴ MV, MSc, Jenny J. Chaparro-Gutiérrez¹ MV, MSc, PhD

Fecha correspondencia:
 Recibido: 26 de julio de 2016.
 Aceptado: 2 de diciembre de 2016.

Forma de citar:
 Villar D, Gutiérrez J, Piedrahita D, Rodríguez-Durán A, Cortés-Vecino JA, Góngora-Orjuela A, Martínez N, Chaparro-Gutiérrez JJ. Resistencia *in vitro* a acaricidas tópicos de poblaciones de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* provenientes de cuatro departamentos de Colombia. Rev. CES Med. Zootec. 2016; Vol 11 (3): 58-70.

Open access
 © Copyright
 Creative commons
 Ethics of publications
 Peer review
 Open Journal System
 e-ISSN 1900-9607

Abstract
 In Colombia, the control of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* lies almost exclusively on the use of chemical acaricides. However, *R. (B.) microplus* has developed resistance to most of the commercially available products. The aim of this study was to assess the degree of resistance to the major topical acaricides used in Colombia. The adult immersion test was used as recommended by FAO with ticks from 7 farms originating in 4 distant Colombian regions. The efficacy of the products was calculated based on the reproductive parameters of fecundity and fertility with groups of ticks (n = 40) exposed to the recommended concentrations of each acaricide, and compared with the respective control group exposed to distilled water. In general, products containing deltamethrin (25 ppm) and amitraz (208 ppm) were less effective, with efficacy values of <20% and 10-50%, respectively. Doubling the concentration did not increase the efficacy of either compound. The combination of chlorpyrifos (312 ppm) + cypermethrin (150 ppm) showed great variation between farms, with an efficacy ranging between 22-93%. Unlike chlorpyrifos, the organophosphorus ethion (622 ppm) was 99-100% effective in completely inhibiting oviposition in 4 of the 7 farms. In conclusion, resistance to deltamethrin and amitraz is very high in seven distant strains of the Colombian territory, varies widely for chlorpyrifos, and was not detected for ethion that was 99-100% effective.

Resistencia *in vitro* a acaricidas tópicos de poblaciones de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **CES MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**
 Septiembre - diciembre 2016 - Página 60
 Keywords: cattle, acaricides, resistance, ticks

VI Congreso Latinoamericano de Enfermedades Rickettsiales & I Encuentro de Ecología y Control de Ectoparásitos

Detección molecular de *Rickettsia* spp en carrapatos *Amblyomma mixtum* del departamento de Arauca, Colombia

Molecular detection of *Rickettsia* spp in *Amblyomma mixtum* ticks from the department of Arauca, Colombia

Alejandro Ramírez-Hernández^{1,2}, MV, MSc, PhD(est); Carolina Serpa¹, MV, MSc(est); Wilson O Imbacuán-Pantoja¹, MV; Sebastián Muñoz Leal¹, MV, PhD(est); Arlex Rodríguez Durán², MVZ, MSc(est); Thiago Martins², MV, MSc, PhD; Jesús A Cortés-Vecino², MV, MSc, PhD; Marcelo Bahía Labruna¹, MV, MSc, PhD.

Introducción: As espécies de carrapatos do complexo *Amblyomma cajennense* sensu lato são parasitas trioxenos, com alta diversidade de hospedeiros e de ampla distribuição no continente americano. Algumas espécies são reconhecidas como vetores de *Rickettsia rickettsii* e das seis identificadas, duas têm sido reportadas na Colômbia: *Amblyomma patinoi* e *Amblyomma mixtum*. Esta última foi registrada recentemente nos departamentos de Arauca e Casanare. Embora diversas espécies de *Rickettsia* do Grupo das Febres Maculosas têm sido encontradas em espécimes de *A. mixtum* em países da América central e do norte, não existem registros na Colômbia. **Objetivo:** Identificar molecularmente espécies de *Rickettsia* em carrapatos *A. mixtum* coletados do ambiente e animais domésticos no Departamento de Arauca (Colômbia). **Métodos:** Entre setembro de 2016 e janeiro de 2017, foram coletados carrapatos em bovinos, equinos e vegetação nos municípios de Saravena, Cravo Norte e Arauca. As amostras foram conservadas em metanol absoluto e identificadas morfológicamente



VI Congreso Latinoamericano
de Enfermedades Rickettsiales
&
I Encuentro de ecología y control de ectoparásitos

através de chaves específicas e a observação do orifício genital da fêmea para confirmação de espécie dentro do complexo *A. cajennense*. Foi feita extração de DNA com Isotiocianato de Guanidina (GT), individualmente para machos, fêmeas e ninfas, e por grupos de larvas. Amplificaram-se por PCR convencional, genes (*gltA* e *ompA*) para detecção das espécies de *Rickettsia*. As amostras positivas para ambos têm sido submetidas a sequenciamento e identificação de espécie posterior ao alinhamento básico (BLAST) com sequências depositadas no GenBank. **Resultados:** Numa primeira amostragem, foram obtidos 153 adultos identificados como *A. mixtum* (98 fêmeas e 55 machos) e um macho como *Rhipicephalus microplus*. Foi feita uma extração preliminar de DNA de 42 amostras de *A. mixtum* (20 machos e 22 fêmeas) da qual uma fêmea (2,38%) amplificou para ambos genes com uma sequência com homologia do 100% para *Rickettsia amblyommatis*. **Conclusão:** Segundo os resultados preliminares, evidencia-se a circulação da espécie *R. amblyommatis* em carrapatos *A. mixtum* da região em estudo. Continuam os processos de extração de DNA e análise molecular para estabelecer a frequência de infecção e identificar esta as outras possíveis espécies de *Rickettsia*.

Palavras chave: *Amblyomma cajennense*, ectoparasitas, febre maculosa das montanhas rochosas, rickettsiales.

Rev Colomb Cienc Pecu 2017; 30(Supl)

302

VI Congreso Latinoamericano de Enfermedades Rickettsiales & I Encuentro de Ecología y Control de Ectoparásitos

Prevalencia de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) en bovinos de la subregión del piedemonte llanero del departamento de Arauca, Colombia*

Prevalence of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) in cattle of the plains piedmont subregion of the department of Arauca, Colombia

Arlex Rodríguez Durán, MVZ, MSc(c); Jesús A Cortés Vecino, MV, MSc, PhD.

Introducción: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* representa una pérdida económica por su efecto expoliatriz y vector biológico de patógenos y toxinas. Para el Piedemonte de Arauca es nula la información de este artrópodo. **Objetivo:** Estimar la prevalencia de *R. (B.) microplus* en bovinos de la subregión de Piedemonte de Arauca. **Métodos:** Se tomaron 28 predios en los municipios de Arauquita, Fortul, Tame y Saravena, donde se seleccionaron 308 bovinos de diferentes razas en las tipologías de ceiba, cría y doble propósito. Las colectas se realizaron durante las épocas de invierno y verano. El nivel de prevalencia se cuantificó a través de la fórmula de Gordis (2008). Los datos obtenidos se analizaron utilizando estadística descriptiva.



VI Congreso Latinoamericano
de Enfermedades Rickettsiales
&
I Encuentro de ecología y control de ectoparásitos

Resultados: Se presentó una prevalencia del 95,5% (2155 individuos identificados) en las tres tipologías. El municipio de Tame registró la mayor prevalencia con el 29,9%, siendo la tipología de doble propósito donde se presentó una alta prevalencia de este ectoparásito con el 59,5%. **Conclusión:** Se observó que el 96,4% de los predios investigados presentan infestación de *R. (B.) microplus* durante las dos épocas climáticas, es decir, los factores abióticos (temperatura y humedad) no infirieron del todo en el desarrollo y la supervivencia de este ectoparásito. Asimismo, la prevalencia de hato fue más alta que la subregión de sabana de esta zona del país, lo anterior, puede estar dado por la variedad racial, la resistencia a los compuestos químicos y las condiciones agroecológicas de piedemonte.

Palabras clave: Arauca, bovino, garrapata, piedemonte, prevalencia.

Keywords: Arauca, bovine, piedmont, prevalence, tick.

Rev Colomb Cienc Pecu 2017; 30(Supl)

325



VI Congreso Latinoamericano de Enfermedades Rickettsiales
& I Encuentro de Ecología y Control de Ectoparásitos

Evaluación de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) en bovinos de la subregión de sabana del departamento de Arauca, Colombia*

Evaluation of the Rhipicephalus (Boophilus) microplus tick (Canestrini, 1888) in cattle of the savannah subregion of the department of Arauca, Colombia



VI Congreso Latinoamericano
de Enfermedades Rickettsiales
I Encuentro de ecología y control de ectoparásitos

Arlex Rodríguez Durán, MVZ, MSc(c); Jesús A Cortés Vecino, MV, MSc, PhD.

Introducción: La garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* es un ectoparásito hematófago obligado (Brisola, 2011). La epidemiología de este artrópodo es conocida en Colombia, para el caso de la subregión de sabana del Departamento de Arauca es poco reciente. **Objetivo:** Identificar y estimar la prevalencia de *R. (B.) microplus* del ganado bovino en la subregión de sabana del Departamento de Arauca (Colombia). **Métodos:** Se tomaron 27 predios en los Municipios de Arauca, Cravo Norte y Puerto Rondón, donde se seleccionaron 288 bovinos de diferentes razas en las tipologías de ceba, cría y doble propósito. Las colectas se realizaron durante la época de invierno y verano. La caracterización se realizó a través de las claves taxonómicas de Mullen y Durden (2009), entre otros autores. Los datos obtenidos se analizaron, utilizando estadística descriptiva.

Resultados: Se identificaron 11.560 individuos de *R. (B.) microplus*, siendo el Municipio de Arauca, el de mayor presencia con el 43,6% (5.040). La tipología de doble propósito registró una alta infestación con el 53% (6.127). Mientras que la época de verano presentó el número más alto de *R. (B.) microplus* con 8334 (72,1%). La prevalencia para esta especie fue del 93,8% en las tres tipologías. También, se identificó 1.334 individuos de *Amblyomma* spp. **Conclusión:** Los animales se encontraban en condiciones ambientales similares, sin embargo, se registró diferencias, esto se puede deber a factores como el manejo, la diversidad de las razas de los bovinos, el uso excesivo de los compuestos químicos y factores abióticos (temperatura y humedad) pudieron inferir en el desarrollo y la supervivencia de *R. (B.) microplus* en esta zona del país.

Palabras clave: Arauca, bovino, garrapata, prevalencia, sabana.

Keywords: Arauca, bovine, prevalence, savanna, tick.



WAAVP

27th Conference of the World Association for
the Advancement of Veterinary Parasitology
JULY 7 - 11, 2019 | MADISON, WI, USA
Dedicated to the legacy of Professor Arlie C. Todd

Sifting and Winnowing the Evidence in Veterinary Parasitology

PS02.78 Acaricide Resistance Profile of
Rhipicephalus Microplus From Arauca,
Colombia

Dr David Villar¹, Mr Arlex Rodríguez-Durán²,
Mr Felipe Bossio¹, Dr. Robert Miller³, Dr.
Gulherme Klafke⁴, Dr. Adalberto Pérez de
León⁵, Dr. Jesús A. Cortés-Vecino², Dr. Jenny J.
Chaparro-Gutiérrez¹

Rhipicephalus microplus, commonly known as the southern cattle fever tick (SCFT), prevents raising pure *Bos taurus* cattle breeds in Colombia because it feeds on blood and transmits pathogens. Intense chemical treatments with synthetic acaricides as the only control method selected for SCFT populations that are resistant to multiple classes of acaricides. The objective of this study was to assess the resistance profile of SCFT infesting livestock at a farm in the Department of Arauca, Colombia, through bioassays and molecular techniques. Results from multiple Adult Immersion Tests (AIT) showed complete lack of deltamethrin

efficacy at concentrations of 2 and 4x above therapeutic levels of 50 ppm. The Larval Immersion Test (LIT) with deltamethrin confirmed the high resistance status (RR = 241.6). At label concentrations, the organophosphorus chlorpyrifos (312 ppm) had an intermediate value efficacy of 65-75%, whereas ethion (622 ppm) maintained 100% efficacy. With the (LIT), the LC50 (6.34 ppm) and LC99 (22.79 ppm) for ivermectin were not different to a susceptible SCFT strain, and 5-6 fold lower than values published before showing lack of field efficacy. Due to complete lack of efficacy against SCFT, pyrethroids were no longer used by the producer in this farm. Ethion was the main acaricide employed with alleged good SCFT control. A PCR-RFLP technique to investigate the presence of a carboxylesterase mutation associated with pyrethroid resistance revealed a mixture of homozygous wild-type (n=4), heterozygous (n=13), and homozygous (n=10) mutant genotypes, although SCFT showed a resistant phenotype against deltamethrin.

Thus, different resistant mechanisms to pyrethroids may be involved including mutations in the para-sodium channel. These results complement reports from other regions of Colombia where a complete lack of efficacy occurs towards pyrethroids. Best practices need to be developed regarding the use of ethion as the only acaricide affording complete SCFT efficacy across different parts of Colombia.



1 **Resistance profile of the cattle-fever tick *Rhipicephalus microplus* to acaricides in a**
2 **farm from Arauca, Colombia.**

3 David Villar¹, Arlex Rodríguez-Durán², Guilherme Klafke^{3,4}, Felipe Bossio¹, Robert Miller³, Adalberto A. Pérez de
4 León⁵, Jesús A. Cortés-Vecino² and Jenny J. Chaparro-Gutiérrez¹

5
6 1.CIBAV Research Group, School of Veterinary Medicine, Faculty of Agrarian Science, Universidad de Antioquia,
7 Carrera 75 No 65-87, Bloque 47-241, Medellín, Colombia




8 2. Grupo de Investigación Parasitología Veterinaria, Departamento de Salud Animal, Facultad de Medicina
9 Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá D.C. Colombia

10 3. USDA-ARS Cattle Fever Tick Research Laboratory and Veterinary Pest Genomics Center, Edinburg, TX U.S.A.

| | |
|-------------------------------|-----------------------------------|
| Journal: | Medical and Veterinary Entomology |
| Manuscript ID | MVE-19-2005 |
| Wiley - Manuscript type: | Original Article |
| Date Submitted by the Author: | 27-May-2019 |

SCHOLARONE™
Manuscripts

Anexo 1. Historia clínica empleada en la anamnesis para detectar formas parasíticas

|  HISTORIA CLÍNICA   | | | | | | | | | |
|---|--|------|------|------|--------|-------|---|------|------|
| Código No | | | | | | Fecha | d | m | a |
| Nombre finca | | | | | Vereda | | | | |
| Especie | | | Raza | | | Sexo | | | Edad |
| Peso | | C.C. | | T.C. | | F.R. | | F.C. | |

EXAMEN CLÍNICO

| |
|--|
| I. Mucosas |
| |
| II. Tegumento |
| |
| V. Sistema genitourinario |
| |
| VI. Sistema músculo esquelético |
| |
| VII. Sistema nervioso |
| |
| VIII. Observaciones |

Fuente: Original.




Anexo 2. Formato empleado durante el muestreo de garrapatas en vegetación en el departamento de Arauca

|  MUESTREO DE GARRAPATAS EN VEGETACIÓN   | | | | | | | | | |
|---|----------|---------|--|-------------|--------|----------------------------|-------------------|--------|---|
| Código No | | | | | | Fecha de Muestreo | d | m | a |
| Nombre finca | | | | | Vereda | | | | |
| Municipio | | | | Hora inicio | | | Hora finalización | | |
| Tª ambiente | | | | | | Tª suelo | | | |
| Humedad relativa ambiente (%) | | | | | | Humedad relativa suelo (%) | | | |
| Tipo de día (X) | | Soleado | | | | Nublado | | | |
| Estado del suelo (X) | | Seco | | | | Mojado | | | |
| Viento (X) | Ausencia | | | Leve | | | Moderado | | |
| Tipo de vegetación (X) | | Sabana | | Estepa | | Pradera | | Bosque | |
| Nombre especie de forraje | | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | |
|-------------------------------|---------------|--|--------|------------------|---------|--|---------------|--|-------|
| Altura de vegetación | Alta (>30 cm) | | | Media (15-30 cm) | | | Baja (<15 cm) | | |
| Animales domésticos | Bovino | | Equino | | Porcino | | Caninos | | Otros |
| Animales silvestres | | | | | | | | | |
| Observaciones | | | | | | | | | |
| Esquematización del recorrido | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |




Fuente: Original

Anexo 3. Ficha de Laboratorio empleada durante la identificación taxonómica de las garrapatas colectadas en el departamento de Arauca

|  | | Registro de garrapatas identificadas taxonómicamente | | | | | |  | |  | |
|---|-----------|---|-----------------|-------|--------|--------|-------|---|----------|---|--|
| No | Código No | Especie de garrapata | Estadio de vida | | | | Total | Acumulado | Promedio | Otros ectoparásitos | |
| | | | Hembra | Macho | Ninfas | Larvas | | | | | |
| 1 | | | | | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | | | | | |
| 3 | | | | | | | | | | | |
| 4 | | | | | | | | | | | |
| 5 | | | | | | | | | | | |
| 6 | | | | | | | | | | | |
| 7 | | | | | | | | | | | |

Fuente: Original

Anexo 4. Formato de encuesta epidemiológica empleada durante el muestreo de
garrapatas en bovinos en el departamento de Arauca

| | | | | | | | | | | |
|---|-----|--------------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------|---|-----------|---|-----|----|
|  | | ENCUESTA EPIDEMIOLÓGICA | | | |  | |  | | |
| | | | | | | Encuesta No | | Fecha | d | m |
| 1. IDENTIFICACIÓN DE LA UNIDAD EXPERIMENTAL | | | | | | | | | | |
| Nombre de la finca | | | Vereda | | | Municipio | | | | |
| Georreferenciación | | | Nombre del entrevistado | | | | | | | |
| Distancia cabecera municipal (km) | | | Tiempo (min) | | Vías de acceso | | Pavimento | Camino veredal | Río | |
| No Hectáreas | | | | Tipo de producción bovina | | | | | | |
| No Bovinos | <1A | 1-2A | 2-3A | >3A | Total | Presencia de otros animales | | | Si | No |
| ¿Cuáles especies? | | | | | | | | | | |
| Presencia de animales silvestres | | | Si | No | ¿Cuáles especies? | | | | | |

| | | | | | | | | | | |
|---|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| 2. FACTORES DE RIESGO A LA PRESENCIA DE ESPECIES Y GÉNEROS DE GARRAPATAS EN LOS BOVINOS | | | | | | | | | | |
| 2.1. Métodos y frecuencia de aplicación del control | | | | | | | | | | |
| 2.1.1. ¿Cuándo decide aplicar el tratamiento garrapaticidas? | | | | | 2.1.2. ¿Qué tipo de control emplea para disminuir las poblaciones de garrapatas en la finca? | | | | | |
| a. Infestación baja (<40) | | | | | a. Químicos ¿Cuál? | | | | | |
| b. Infestación media (40-200) | | | | | b. Biológicos ¿Cuál? | | | | | |
| c. Infestación alta (>500) | | | | | c. Vacunas ¿Cuál? | | | | | |
| | | | | | d. Rotación de potreros | | | | | |
| | | | | | e. Especies de animales desfavorables | | | | | |
| | | | | | f. Especies vegetales desfavorables | | | | | |
| | | | | | g. Otro ¿Cuál? | | | | | |
| 2.1.3. ¿Cuál es la frecuencia con la que realiza el control de las garrapatas en la finca? | | | | | 2.1.4. Si emplea control químico, ¿cuál es la frecuencia de cambio del producto garrapaticidas? | | | | | |
| a. Semanal | | | | | a. Mensual | | | | | |
| b. Quincenal | | | | | b. Trimestral | | | | | |
| c. Mensual | | | | | c. Semestral | | | | | |
| d. Semestral | | | | | d. Anual | | | | | |
| e. Anual | | | | | e. Nunca | | | | | |
| f. Otro ¿Cuál? | | | | | f. Otro ¿Cuál? | | | | | |
| g. Nunca | | | | | | | | | | |
| 2.1.5. ¿Cuál es el costo de un (1) frasco* del producto garrapaticida usado? y ¿cuántos bovinos trata con ese frasco? | | | | | 2.1.6. ¿Si realiza una o varias estrategias de control alternativo de garrapatas? (Mencione cada método) | | | | | |
| a. Nombre comercial: _____ | | | | | | | | | | |
| Costo económico de un (1) frasco: _____ | | | | | | | | | | |
| b. No baños: _____ No bovinos: _____ | | | | | | | | | | |
| 2.1.7. ¿Los baños los aplican para controlar? | | | | | 2.1.8. ¿A qué bovinos les realiza el control? | | | | | |
| a. Garrapatas | | | | | a. Lote de ordeño | | | | | |
| b. Moscas | | | | | b. Lote de cría | | | | | |
| c. Tábanos | | | | | c. Lote de ceba | | | | | |
| d. Para todos | | | | | d. Todo el rodeo | | | | | |
| | | | | | e. Otro ¿Cuál? | | | | | |
| 2.1.9. ¿Los baños los realiza con ayuda de? | | | | | 2.1.10. ¿Ha recibido instrucciones para el uso de los acaricidas por? | | | | | |
| a. Bomba de espalda | | | | | a. Médico Veterinario | | | | | |
| b. Bomba de motor | | | | | b. Técnico | | | | | |
| c. Tanque de inmersión | | | | | c. Almacén agropecuario | | | | | |

| | | | |
|---|--|---|--|
| d. Manga de aspersión e. Trapo enjuague | | d. Vecino e. Otro ¿Cuál? | |
| 2.2. Condiciones medio ambientales | | | |
| 2.2.1. ¿Fisiográficamente, su predio se encuentra compuesto por? | | 2.2.2. ¿El área inundable durante la época de lluvia es? | |
| a. Banco b. Banqueta c. Bajo d. Estero e. Meseta f. Otro ¿Cuál? | | Ha(s): | |
| 2.2.3. ¿El número de meses inundable son?, ¿teniendo los meses de inicio y el mes de finalización? | | 2.2.4. ¿En qué época del año se presenta mayor frecuencia de infestación de garrapatas en la finca? | |
| No meses inundables: _____ Mes de inicio: _____ Mes de finalización: _____ | | a. Época seca b. Transición verano-invierno c. Época de lluvia d. Transición invierno-verano e. Ninguna | |
| 2.3. Tipología racial | | | |
| 2.3.1. ¿Cuál(es) son la(s) raza(s) que predominan en la finca? | | 2.3.2. De las razas que se encuentran en la finca, ¿ha observado que una presente menor infestación a garrapatas, frente a las otras razas? | |
| a. Cebú comercial b. Criolla c. Gyr d. Simmental e. Holstein f. Mestizos g. Otra ¿Cuál? | | a. Si ¿Cuál? _____ b. No | |
| 2.3.3. ¿Ha cambiado una raza establecida en su finca por una alta infestación a garrapatas? | | 2.3.4. ¿Qué criterio(s) emplea para incorporar una nueva raza bovina a su finca? | |
| a. Si ¿Cuál? _____ b. No | | a. Productividad b. Reproducción c. Resistencia d. Adaptabilidad e. Recomendación del vecino f. Otro ¿Cuál? | |
| 2.3.5. ¿Tipo de compra de los bovinos? | | 2.3.6. ¿La compra de los bovinos fue hecha en la región? | |
| a. Productor b. Feria c. Subasta d. Fincas vecinas e. Otro ¿Cuál? | | a. Si ¿Cuál? _____ b. No | |
| 2.4. Edad y nutrición | | | |
| 2.4.1. ¿Cuál es la edad mínima de los bovinos a la cual usted le ha encontrado garrapatas? | | 2.4.2. ¿Qué tipo de suplemento mineral les suministra a los bovinos en la finca? | |
| a. <1 Año b. 1-2 Años c. 2-3 Años d. >3 Años | | a. Sal mineralizada comercial b. Sal común c. Sal mineralizada más melaza d. Suplemento alimenticio e. Bloques mineralizados | |

Fuente: Original

Anexo 5. Número de especies de garrapatas observadas en la fase parasítica en los bovinos estudiados en el departamento de Arauca

| No | Especies de garrapatas | No total | Porcentaje de aparición |
|-------|---------------------------|----------|-------------------------|
| 1 | <i>A. cajennense</i> s.l. | 185 | 0,370 |
| 2 | <i>A. dissimile</i> | 1 | 0,002 |
| 3 | <i>A. mixtum</i> | 153 | 0,306 |
| 4 | <i>Amblyomma</i> spp. | 176 | 0,352 |
| 5 | <i>Rh. (B.) microplus</i> | 49.446 | 98,965 |
| 6 | <i>Rh. sanguineus</i> | 1 | 0,002 |
| 7 | <i>Rhipicephalus</i> spp. | 1 | 0,002 |
| Total | | 49.963 | 100 |

Fuente: Original

Anexo 6. Número de especies de garrapatas observadas en la fase no parasítica en los bovinos estudiados en el departamento de Arauca

| No | Especies de garrapatas | No total | Porcentaje de aparición |
|-------|---------------------------|----------|-------------------------|
| 1 | <i>Rh. (B.) microplus</i> | 5.618 | 79,6 |
| 2 | <i>Rhipicephalus</i> spp. | 88 | 1,2 |
| 3 | <i>A. cajennense</i> s.l. | 1.219 | 17,3 |
| 4 | <i>Amblyomma</i> spp. | 133 | 1,9 |
| Total | | 7.058 | 100 |

Fuente: Original

Anexo 7. Número de especies de garrapatas observadas en las dos fases de vida en los predios estudiados en el departamento de Arauca

| No | Especies de garrapatas | No total | Porcentaje de aparición |
|-------|---------------------------|----------|-------------------------|
| 1 | <i>A. cajennense</i> s.l. | 1.404 | 2,462 |
| 2 | <i>A. dissimile</i> | 1 | 0,002 |
| 3 | <i>A. mixtum</i> | 153 | 0,268 |
| 4 | <i>Amblyomma</i> spp. | 309 | 0,542 |
| 5 | <i>Rh. (B.) microplus</i> | 55.064 | 96,568 |
| 6 | <i>Rh. sanguineus</i> | 1 | 0,002 |
| 7 | <i>Rhipicephalus</i> spp. | 89 | 0,156 |
| Total | | 57.021 | 100 |

Fuente: Original

Anexo 8. Número de garrapatas observadas por géneros en las dos fases de vida en los predios estudiados en el departamento de Arauca

| No | Género | No total | Porcentaje de aparición |
|-------|----------------------|----------|-------------------------|
| 1 | <i>Amblyomma</i> | 1.877 | 3,3 |
| 2 | <i>Rhipicephalus</i> | 55.144 | 96,7 |
| Total | | 57.021 | 100 |

Fuente: Original

Anexo 9. Descripción en detalle de las garrapatas observadas en los predios estudiados en el departamento de Arauca

| Fase | Municipio | Cód Predio | No bovino | Repetición de muestra | Sexo | | Estadio de vida | | Total venula |
|------------|-----------|------------|-----------|-----------------------|--------|-------|-----------------|--------|--------------|
| | | | | | Hembra | Macho | Ninfas | Larvas | |
| Parasítica | Arauca | 3 | 4 | M1 | 10 | 7 | 4 | 0 | 21 |
| Parasítica | Arauca | 3 | 3 | M1 | 10 | 4 | 5 | 0 | 19 |
| Parasítica | Arauca | 7 | 1 | M1 | 4 | 1 | 29 | 0 | 34 |
| Parasítica | Arauca | 7 | 2 | M1 | 22 | 5 | 1 | 0 | 28 |
| Parasítica | Arauca | 7 | 3 | M1 | 41 | 0 | 2 | 0 | 43 |
| Parasítica | Arauca | 7 | 4 | M1 | 11 | 0 | 3 | 0 | 14 |
| Parasítica | Arauca | 9 | 6 | M1 | 0 | 0 | 27 | 0 | 27 |
| Parasítica | Arauca | 12 | 3 | M1 | 0 | 0 | 3 | 0 | 3 |
| Parasítica | Arauca | 12 | 1 | M1 | 143 | 37 | 15 | 0 | 195 |
| Parasítica | Arauca | 7 | 5 | M1 | 9 | 0 | 13 | 0 | 22 |
| Parasítica | Arauca | 9 | 5 | M1 | 17 | 0 | 11 | 0 | 28 |
| Parasítica | Arauca | 7 | 1 | M2 | 61 | 24 | 23 | 0 | 108 |
| Parasítica | Arauca | 9 | 4 | M1 | 8 | 0 | 0 | 0 | 8 |
| Parasítica | Arauca | 9 | 3 | M1 | 1 | 0 | 3 | 0 | 4 |
| Parasítica | Arauca | 9 | 2 | M1 | 130 | 76 | 35 | 0 | 241 |
| Parasítica | Arauca | 9 | 1 | M1 | 92 | 3 | 0 | 0 | 95 |
| Parasítica | Arauca | 9 | 7 | M1 | 117 | 74 | 33 | 0 | 224 |
| Parasítica | Arauca | 12 | 2 | M1 | 40 | 32 | 87 | 0 | 159 |
| Parasítica | Arauca | 12 | 4 | M1 | 39 | 23 | 18 | 0 | 80 |
| Parasítica | Arauca | 12 | 5 | M1 | 48 | 24 | 14 | 0 | 86 |
| Parasítica | Arauca | 8 | 9 | M1 | 118 | 72 | 78 | 0 | 268 |
| Parasítica | Arauca | 8 | 8 | M1 | 97 | 53 | 27 | 0 | 177 |
| Parasítica | Arauca | 8 | 7 | M1 | 14 | 2 | 2 | 0 | 18 |
| Parasítica | Arauca | 8 | 6 | M1 | 62 | 38 | 19 | 0 | 119 |

| | | | | | | | | | |
|------------|--------|---|-------|----|-----|-----|----|----|-----|
| Parasítica | Arauca | 5 | 4 | M1 | 183 | 65 | 16 | 0 | 264 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 3 | M2 | 4 | 0 | 0 | 0 | 4 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 7 | M2 | 13 | 0 | 0 | 0 | 13 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 1 | M2 | 37 | 7 | 5 | 0 | 49 |
| Parasítica | Arauca | 4 | 1 y 2 | M1 | 34 | 28 | 14 | 0 | 76 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 9 | M1 | 1 | 0 | 13 | 0 | 14 |
| Parasítica | Arauca | 3 | 1 | M1 | 75 | 50 | 4 | 0 | 129 |
| Parasítica | Arauca | 3 | 5 | M1 | 18 | 8 | 6 | 0 | 32 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 5 | M2 | 68 | 14 | 9 | 0 | 91 |
| Parasítica | Arauca | 4 | 3 | M1 | 47 | 32 | 28 | 0 | 107 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 6 | M1 | 18 | 17 | 4 | 0 | 39 |
| Parasítica | Arauca | 3 | 3 | M2 | 6 | 2 | 0 | 0 | 8 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 2 y 3 | M1 | 24 | 40 | 13 | 0 | 77 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 3 | M2 | 63 | 8 | 5 | 0 | 76 |
| Parasítica | Arauca | 4 | 2 | M1 | 151 | 54 | 37 | 10 | 252 |
| Parasítica | Arauca | 7 | 3 y 4 | M1 | 22 | 0 | 1 | 0 | 23 |
| Parasítica | Arauca | 3 | 6 y 7 | M1 | 83 | 44 | 28 | 0 | 155 |
| Parasítica | Arauca | 5 | 6 | M1 | 19 | 3 | 0 | 0 | 22 |
| Parasítica | Arauca | 5 | 2 | M1 | 109 | 51 | 18 | 0 | 178 |
| Parasítica | Arauca | 4 | 4 y 5 | M1 | 55 | 1 | 21 | 0 | 77 |
| Parasítica | Arauca | 5 | 1 | M1 | 165 | 55 | 5 | 0 | 225 |
| Parasítica | Arauca | 5 | 5 | M1 | 254 | 117 | 3 | 0 | 374 |
| Parasítica | Arauca | 3 | 4 | M1 | 52 | 29 | 6 | 0 | 87 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 5 | M1 | 73 | 21 | 5 | 0 | 99 |
| Parasítica | Arauca | 3 | 5 | M1 | 12 | 4 | 1 | 0 | 17 |
| Parasítica | Arauca | 3 | 4 | M1 | 67 | 14 | 0 | 0 | 81 |
| Parasítica | Arauca | 3 | 3 | M1 | 61 | 7 | 0 | 0 | 68 |
| Parasítica | Arauca | 1 | 3 y 5 | M1 | 34 | 17 | 5 | 0 | 56 |
| Parasítica | Arauca | 5 | 2 | M2 | 4 | 0 | 0 | 0 | 4 |

| | | | | | | | | | |
|---------------|-----------|----|-----------------|----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Parasítica | Arauca | 2 | 1, 2 y 5 | M2 | 6 | 2 | 0 | 0 | 8 |
| Parasítica | Arauca | 3 | 2 | M1 | 38 | 34 | 3 | 0 | 75 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 3 | M1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 2 | M1 | 35 | 3 | 69 | 161 | 268 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 1 | M1 | 28 | 22 | 198 | 193 | 441 |
| No parasítica | Arauca | 1 | 0 | M1 | 0 | 0 | 0 | 54 | 54 |
| No parasítica | Arauca | 4 | 0 | M1 | 0 | 0 | 0 | 63 | 63 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 1 | M1 | 26 | 13 | 12 | 0 | 51 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 9 | M2 | 39 | 4 | 11 | 0 | 54 |
| Parasítica | Arauca | 4 | 1 | M1 | 41 | 11 | 0 | 34 | 86 |
| No parasítica | Arauca | 7 | 0 | M1 | 0 | 0 | 0 | 36 | 36 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 8 | M1 | 132 | 42 | 18 | 0 | 192 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 1 | M1 | 35 | 46 | 1 | 0 | 82 |
| Parasítica | Arauca | 7 | 2 | M1 | 9 | 3 | 9 | 0 | 21 |
| Parasítica | Arauca | 3 | 3 y 4 | M1 | 55 | 28 | 15 | 0 | 98 |
| Parasítica | Arauca | 3 | 3 | M1 | 41 | 18 | 8 | 0 | 67 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 6 | M2 | 33 | 7 | 14 | 0 | 54 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 4 | M2 | 16 | 1 | 9 | 0 | 26 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 4 | M1 | 78 | 20 | 4 | 0 | 102 |
| Parasítica | Arauca | 2 | 1 | M2 | 66 | 15 | 10 | 0 | 91 |
| Parasítica | Arauquita | 10 | 2 | M1 | 84 | 49 | 6 | 0 | 139 |
| Parasítica | Arauquita | 10 | 3 | M1 | 17 | 7 | 2 | 0 | 26 |
| Parasítica | Arauquita | 2 | 1 | M1 | 331 | 108 | 11 | 0 | 450 |
| Parasítica | Arauquita | 2 | 4 y 5 | M1 | 75 | 36 | 0 | 0 | 111 |
| Parasítica | Arauquita | 10 | 1,2,3,4,5,6 y 7 | M1 | 59 | 27 | 4 | 0 | 90 |
| Parasítica | Arauquita | 7 | 10 y 11 | M1 | 18 | 6 | 4 | 0 | 28 |
| Parasítica | Arauquita | 10 | 8 y 15 | M1 | 73 | 22 | 6 | 0 | 101 |
| Parasítica | Arauquita | 9 | 5 | M1 | 25 | 18 | 4 | 0 | 47 |
| Parasítica | Arauquita | 10 | 1 | M1 | 45 | 16 | 0 | 0 | 61 |

| | | | | | | | | | |
|---------------|-----------|----|----------|----|-----|-----|----|----|-----|
| Parasítica | Araucuita | 2 | 6 y 7 | M1 | 31 | 7 | 2 | 0 | 40 |
| No parasítica | Araucuita | 7 | 0 | M1 | 0 | 0 | 0 | 6 | 6 |
| Parasítica | Araucuita | 10 | 12 | M1 | 27 | 10 | 2 | 0 | 39 |
| Parasítica | Araucuita | 10 | 10 | M1 | 39 | 12 | 2 | 0 | 53 |
| Parasítica | Araucuita | 10 | 13 | M1 | 62 | 27 | 7 | 2 | 98 |
| Parasítica | Araucuita | 2 | 13 | M1 | 371 | 200 | 63 | 7 | 641 |
| Parasítica | Araucuita | 10 | 14 | M1 | 61 | 22 | 0 | 0 | 83 |
| Parasítica | Araucuita | 10 | 9 | M1 | 20 | 12 | 0 | 0 | 32 |
| Parasítica | Araucuita | 6 | 2 y 3 | M1 | 22 | 13 | 31 | 0 | 66 |
| Parasítica | Araucuita | 2 | 5 | M1 | 70 | 53 | 19 | 0 | 142 |
| Parasítica | Araucuita | 2 | 3 | M1 | 111 | 45 | 18 | 0 | 174 |
| Parasítica | Araucuita | 7 | 1, 2 y 3 | M1 | 21 | 19 | 23 | 0 | 63 |
| Parasítica | Araucuita | 9 | 4 | M1 | 14 | 11 | 0 | 0 | 25 |
| Parasítica | Araucuita | 7 | 4 | M1 | 32 | 27 | 11 | 0 | 70 |
| Parasítica | Araucuita | 10 | 1 | M2 | 85 | 23 | 2 | 0 | 110 |
| Parasítica | Araucuita | 1 | 8 | M1 | 149 | 58 | 1 | 0 | 208 |
| Parasítica | Araucuita | 4 | 3 | M1 | 105 | 71 | 21 | 0 | 197 |
| Parasítica | Araucuita | 1 | 4 | M1 | 148 | 90 | 11 | 0 | 249 |
| Parasítica | Araucuita | 3 | 3 | M1 | 52 | 46 | 13 | 0 | 111 |
| Parasítica | Araucuita | 5 | 4 | M1 | 20 | 14 | 42 | 0 | 76 |
| Parasítica | Araucuita | 1 | 2 | M1 | 76 | 27 | 1 | 0 | 104 |
| Parasítica | Araucuita | 4 | 4 | M1 | 114 | 62 | 39 | 0 | 215 |
| Parasítica | Araucuita | 3 | 4 | M1 | 54 | 47 | 31 | 0 | 132 |
| Parasítica | Araucuita | 4 | 2 | M1 | 139 | 63 | 30 | 0 | 232 |
| Parasítica | Araucuita | 4 | 7 | M1 | 65 | 27 | 8 | 0 | 100 |
| No parasítica | Araucuita | 4 | 0 | M1 | 0 | 2 | 0 | 37 | 39 |
| Parasítica | Araucuita | 4 | 5 | M1 | 140 | 80 | 1 | 0 | 221 |
| Parasítica | Araucuita | 4 | 6 | M1 | 119 | 91 | 19 | 0 | 229 |
| Parasítica | Araucuita | 3 | 1 y 2 | M1 | 7 | 1 | 5 | 3 | 16 |

| | | | | | | | | | |
|---------------|-------------|----|--------------------|----|-----|-----|----|----|-----|
| Parasítica | Araucaria | 1 | 9 | M1 | 125 | 39 | 6 | 0 | 170 |
| Parasítica | Araucaria | 1 | 5 | M1 | 100 | 53 | 2 | 0 | 155 |
| No parasítica | Araucaria | 3 | 0 | M1 | 0 | 0 | 0 | 14 | 14 |
| Parasítica | Araucaria | 1 | 1 | M1 | 49 | 54 | 93 | 0 | 196 |
| Parasítica | Araucaria | 1 | 3 | M1 | 60 | 22 | 0 | 0 | 82 |
| Parasítica | Araucaria | 5 | 5, 6, 7, 8, 9 y 10 | M1 | 20 | 9 | 8 | 0 | 37 |
| Parasítica | Araucaria | 1 | 6 | M1 | 56 | 24 | 2 | 0 | 82 |
| Parasítica | Araucaria | 1 | 7 | M1 | 85 | 53 | 6 | 0 | 144 |
| Parasítica | Araucaria | 3 | 5, 6 y 7 | M1 | 80 | 51 | 19 | 0 | 150 |
| Parasítica | Araucaria | 4 | 1 | M1 | 46 | 11 | 6 | 0 | 63 |
| Parasítica | Araucaria | 4 | 8 y 9 | M1 | 67 | 54 | 18 | 0 | 139 |
| Parasítica | Araucaria | 7 | 5 | M1 | 1 | 0 | 9 | 0 | 10 |
| Parasítica | Araucaria | 9 | 2 | M1 | 36 | 14 | 11 | 0 | 61 |
| No parasítica | Araucaria | 9 | 0 | M1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| Parasítica | Araucaria | 8 | 5 | M1 | 21 | 10 | 0 | 0 | 31 |
| Parasítica | Araucaria | 9 | 9 y 10 | M1 | 34 | 11 | 17 | 0 | 62 |
| Parasítica | Araucaria | 7 | 9 | M1 | 33 | 9 | 21 | 0 | 63 |
| Parasítica | Araucaria | 8 | 8 y 9 | M1 | 33 | 7 | 0 | 0 | 40 |
| Parasítica | Araucaria | 9 | 3 | M1 | 22 | 13 | 5 | 0 | 40 |
| Parasítica | Araucaria | 7 | 2 | M1 | 244 | 29 | 17 | 0 | 290 |
| Parasítica | Araucaria | 9 | 7 y 8 | M1 | 58 | 15 | 8 | 0 | 81 |
| Parasítica | Araucaria | 8 | 6 | M1 | 44 | 24 | 3 | 0 | 71 |
| Parasítica | Araucaria | 8 | 7 | M1 | 8 | 2 | 0 | 0 | 10 |
| Parasítica | Araucaria | 9 | 1 | M1 | 9 | 3 | 8 | 0 | 20 |
| Parasítica | Araucaria | 5 | 1, 2 y 3 | M1 | 9 | 4 | 9 | 0 | 22 |
| Parasítica | Araucaria | 4 | 1 | M2 | 14 | 3 | 2 | 0 | 19 |
| Parasítica | Cravo Norte | 8 | 4 | M1 | 318 | 137 | 47 | 0 | 502 |
| Parasítica | Cravo Norte | 7 | 5 | M1 | 117 | 56 | 10 | 0 | 183 |
| Parasítica | Cravo Norte | 10 | 6 | M1 | 35 | 10 | 4 | 0 | 49 |

| | | | | | | | | | |
|---------------|-------------|----|-------------|----|-----|-----|----|----|-----|
| Parasítica | Cravo Norte | 10 | 3 | M1 | 64 | 22 | 1 | 0 | 87 |
| Parasítica | Cravo Norte | 10 | 1 | M1 | 132 | 167 | 76 | 3 | 378 |
| Parasítica | Cravo Norte | 6 | 5 | M1 | 77 | 57 | 27 | 0 | 161 |
| Parasítica | Cravo Norte | 6 | 1 | M1 | 1 | 0 | 9 | 0 | 10 |
| Parasítica | Cravo Norte | 10 | 2 | M1 | 174 | 29 | 9 | 0 | 212 |
| Parasítica | Cravo Norte | 8 | 4 | M1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| Parasítica | Cravo Norte | 10 | 4 | M1 | 19 | 7 | 0 | 0 | 26 |
| Parasítica | Cravo Norte | 3 | 1 | M1 | 68 | 22 | 1 | 0 | 91 |
| Parasítica | Cravo Norte | 6 | 2 y 3 | M1 | 17 | 11 | 0 | 0 | 28 |
| Parasítica | Cravo Norte | 10 | 5 | M1 | 20 | 9 | 4 | 0 | 33 |
| Parasítica | Cravo Norte | 8 | 5 | M1 | 39 | 14 | 7 | 0 | 60 |
| Parasítica | Cravo Norte | 4 | 5 y 6 | M1 | 85 | 39 | 35 | 0 | 159 |
| Parasítica | Cravo Norte | 6 | 4 | M1 | 39 | 12 | 0 | 0 | 51 |
| Parasítica | Cravo Norte | 6 | 6 | M1 | 88 | 54 | 23 | 0 | 165 |
| Parasítica | Cravo Norte | 8 | 3 | M1 | 98 | 44 | 12 | 0 | 154 |
| Parasítica | Cravo Norte | 6 | 7 | M1 | 21 | 2 | 0 | 0 | 23 |
| Parasítica | Cravo Norte | 8 | 6 | M1 | 118 | 42 | 5 | 0 | 165 |
| Parasítica | Cravo Norte | 3 | 3 y 5 | M1 | 46 | 13 | 0 | 0 | 59 |
| Parasítica | Cravo Norte | 1 | 1, 2, 3 y 5 | M1 | 47 | 25 | 29 | 0 | 101 |
| Parasítica | Cravo Norte | 6 | 8 | M1 | 104 | 50 | 18 | 0 | 172 |
| Parasítica | Cravo Norte | 6 | 4 | M1 | 35 | 18 | 3 | 0 | 56 |
| Parasítica | Cravo Norte | 6 | 1 y 2 | M1 | 73 | 42 | 9 | 0 | 124 |
| No parasítica | Cravo Norte | 6 | 0 | M1 | 0 | 0 | 0 | 38 | 38 |
| Parasítica | Cravo Norte | 6 | 7 | M1 | 44 | 22 | 1 | 0 | 67 |
| Parasítica | Cravo Norte | 8 | 6 | M1 | 27 | 7 | 9 | 0 | 43 |
| Parasítica | Cravo Norte | 8 | 2 | M1 | 132 | 73 | 29 | 0 | 234 |
| Parasítica | Cravo Norte | 4 | 3 | M1 | 69 | 36 | 26 | 0 | 131 |
| Parasítica | Cravo Norte | 4 | 7 | M1 | 18 | 2 | 1 | 0 | 21 |
| Parasítica | Cravo Norte | 6 | 6 | M1 | 17 | 16 | 2 | 0 | 35 |

| | | | | | | | | | |
|------------|-------------|----|---|----|-----|-----|----|---|-----|
| Parasítica | Cravo Norte | 4 | 7 | M2 | 63 | 28 | 8 | 0 | 99 |
| Parasítica | Cravo Norte | 7 | 8 | M1 | 22 | 17 | 10 | 0 | 49 |
| Parasítica | Cravo Norte | 2 | 2 | M1 | 89 | 39 | 29 | 0 | 157 |
| Parasítica | Cravo Norte | 6 | 5 | M1 | 46 | 23 | 0 | 0 | 69 |
| Parasítica | Cravo Norte | 8 | 7 | M1 | 12 | 1 | 3 | 0 | 16 |
| Parasítica | Cravo Norte | 10 | 7 | M2 | 101 | 87 | 31 | 0 | 219 |
| Parasítica | Cravo Norte | 2 | 1 | M1 | 94 | 23 | 19 | 1 | 137 |
| Parasítica | Cravo Norte | 3 | 4 | M2 | 64 | 28 | 4 | 0 | 96 |
| Parasítica | Cravo Norte | 4 | 3 | M2 | 9 | 1 | 0 | 0 | 10 |
| Parasítica | Cravo Norte | 2 | 5 | M1 | 9 | 4 | 9 | 0 | 22 |
| Parasítica | Cravo Norte | 8 | 1 | M1 | 54 | 22 | 9 | 0 | 85 |
| Parasítica | Cravo Norte | 6 | 3 | M1 | 105 | 6 | 0 | 0 | 111 |
| Parasítica | Cravo Norte | 1 | 4 | M1 | 72 | 38 | 13 | 0 | 123 |
| Parasítica | Cravo Norte | 7 | 8 | M1 | 158 | 103 | 25 | 0 | 286 |
| Parasítica | Cravo Norte | 4 | 4 | M1 | 138 | 71 | 3 | 0 | 212 |
| Parasítica | Cravo Norte | 4 | 1 | M2 | 165 | 87 | 9 | 0 | 261 |
| Parasítica | Cravo Norte | 2 | 4 | M1 | 196 | 102 | 5 | 0 | 303 |
| Parasítica | Cravo Norte | 9 | 2 | M1 | 69 | 49 | 28 | 0 | 146 |
| Parasítica | Cravo Norte | 9 | 6 | M1 | 26 | 10 | 3 | 0 | 39 |
| Parasítica | Cravo Norte | 4 | 6 | M2 | 90 | 26 | 2 | 0 | 118 |
| Parasítica | Cravo Norte | 9 | 5 | M1 | 32 | 5 | 6 | 0 | 43 |
| Parasítica | Cravo Norte | 9 | 1 | M1 | 41 | 19 | 7 | 0 | 67 |
| Parasítica | Cravo Norte | 9 | 3 | M1 | 24 | 26 | 28 | 0 | 78 |
| Parasítica | Cravo Norte | 4 | 5 | M2 | 106 | 18 | 0 | 0 | 124 |
| Parasítica | Cravo Norte | 4 | 3 | M2 | 40 | 11 | 1 | 0 | 52 |
| Parasítica | Cravo Norte | 4 | 2 | M1 | 90 | 32 | 9 | 0 | 131 |
| Parasítica | Cravo Norte | 1 | 1 | M1 | 27 | 25 | 26 | 0 | 78 |
| Parasítica | Cravo Norte | 4 | 1 | M2 | 36 | 22 | 17 | 0 | 75 |
| Parasítica | Cravo Norte | 4 | 2 | M2 | 38 | 11 | 12 | 0 | 61 |

| | | | | | | | | | |
|---------------|-------------|---|-------------|----|-----|-----|----|-----|-----|
| Parasítica | Cravo Norte | 4 | 3 | M2 | 16 | 1 | 1 | 0 | 18 |
| Parasítica | Cravo Norte | 4 | 5 | M2 | 30 | 13 | 7 | 0 | 50 |
| Parasítica | Cravo Norte | 4 | 7 | M2 | 29 | 11 | 8 | 0 | 48 |
| Parasítica | Cravo Norte | 4 | 6 | M2 | 66 | 47 | 29 | 0 | 142 |
| Parasítica | Cravo Norte | 4 | 4 | M2 | 150 | 73 | 18 | 0 | 241 |
| No parasítica | Cravo Norte | 6 | 0 | M2 | 0 | 1 | 0 | 156 | 157 |
| Parasítica | Cravo Norte | 2 | 7 | M2 | 20 | 17 | 2 | 0 | 39 |
| Parasítica | Cravo Norte | 2 | 3 | M1 | 102 | 47 | 21 | 1 | 171 |
| Parasítica | Cravo Norte | 9 | 1 | M1 | 9 | 33 | 31 | 0 | 73 |
| Parasítica | Cravo Norte | 9 | 2 | M1 | 49 | 16 | 6 | 0 | 71 |
| No parasítica | Cravo Norte | 1 | 0 | M1 | 21 | 17 | 12 | 0 | 50 |
| Parasítica | Cravo Norte | 7 | 2 y 3 | M1 | 52 | 24 | 12 | 0 | 88 |
| Parasítica | Cravo Norte | 2 | 9 y 10 | M2 | 66 | 37 | 18 | 0 | 121 |
| Parasítica | Cravo Norte | 2 | 1 | M2 | 85 | 25 | 16 | 0 | 126 |
| Parasítica | Cravo Norte | 2 | 4 y 5 | M2 | 17 | 4 | 3 | 0 | 24 |
| Parasítica | Cravo Norte | 2 | 8 | M2 | 32 | 20 | 18 | 0 | 70 |
| Parasítica | Cravo Norte | 5 | 1 | M1 | 21 | 4 | 19 | 6 | 50 |
| Parasítica | Cravo Norte | 5 | 2 | M1 | 33 | 7 | 29 | 11 | 80 |
| Parasítica | Cravo Norte | 5 | 3 | M1 | 8 | 11 | 10 | 0 | 29 |
| Parasítica | Cravo Norte | 5 | 4, 5, 6 y 7 | M1 | 6 | 9 | 15 | 0 | 30 |
| Parasítica | Cravo Norte | 5 | 8 y 9 | M1 | 12 | 7 | 19 | 0 | 38 |
| Parasítica | Cravo Norte | 5 | 1, 2, 3 y 4 | M2 | 28 | 5 | 33 | 0 | 66 |
| Parasítica | Cravo Norte | 5 | 5 y 6 | M2 | 11 | 6 | 17 | 0 | 34 |
| Parasítica | Fortul | 2 | 6 | M1 | 82 | 10 | 11 | 0 | 103 |
| Parasítica | Fortul | 4 | 7 | M1 | 128 | 66 | 41 | 0 | 235 |
| Parasítica | Fortul | 5 | 2 y 11 | M1 | 197 | 138 | 42 | 0 | 377 |
| Parasítica | Fortul | 1 | 2 | M1 | 61 | 30 | 26 | 1 | 118 |
| Parasítica | Fortul | 7 | 1 | M1 | 9 | 2 | 2 | 0 | 13 |
| Parasítica | Fortul | 1 | 5 | M1 | 114 | 37 | 8 | 1 | 160 |

| | | | | | | | | | |
|---------------|--------|---|-------|----|-----|-----|----|----|-----|
| Parasítica | Fortul | 4 | 9 | M1 | 130 | 37 | 34 | 0 | 201 |
| Parasítica | Fortul | 3 | 1 | M1 | 116 | 44 | 16 | 0 | 176 |
| Parasítica | Fortul | 2 | 1 y 7 | M1 | 191 | 61 | 5 | 0 | 257 |
| Parasítica | Fortul | 5 | 5 | M1 | 85 | 38 | 2 | 0 | 125 |
| Parasítica | Fortul | 4 | 8 | M2 | 103 | 16 | 13 | 0 | 132 |
| Parasítica | Fortul | 3 | 5 | M1 | 115 | 21 | 4 | 0 | 140 |
| Parasítica | Fortul | 3 | 4 | M1 | 147 | 71 | 27 | 0 | 245 |
| Parasítica | Fortul | 4 | 3 | M1 | 42 | 11 | 5 | 0 | 58 |
| Parasítica | Fortul | 1 | 3 | M1 | 261 | 66 | 23 | 0 | 350 |
| Parasítica | Fortul | 3 | 3 | M1 | 155 | 48 | 22 | 0 | 225 |
| Parasítica | Fortul | 1 | 1 | M1 | 143 | 35 | 24 | 0 | 202 |
| Parasítica | Fortul | 5 | 3 y 4 | M1 | 201 | 127 | 10 | 0 | 338 |
| Parasítica | Fortul | 4 | 2 | M1 | 64 | 21 | 40 | 0 | 125 |
| Parasítica | Fortul | 5 | 6 y 7 | M1 | 194 | 90 | 4 | 0 | 288 |
| Parasítica | Fortul | 4 | 2 | M1 | 65 | 28 | 43 | 0 | 136 |
| Parasítica | Fortul | 5 | 3 y 4 | M2 | 198 | 134 | 7 | 0 | 339 |
| Parasítica | Fortul | 1 | 1 | M1 | 147 | 41 | 20 | 0 | 208 |
| Parasítica | Fortul | 4 | 4 | M1 | 50 | 6 | 2 | 0 | 58 |
| Parasítica | Fortul | 2 | 2 | M1 | 95 | 27 | 7 | 0 | 129 |
| Parasítica | Fortul | 2 | 2 | M2 | 94 | 28 | 7 | 0 | 129 |
| Parasítica | Fortul | 4 | 5 | M1 | 50 | 16 | 2 | 0 | 68 |
| Parasítica | Fortul | 3 | 2 | M1 | 202 | 102 | 19 | 0 | 323 |
| No parasítica | Fortul | 5 | 0 | M1 | 0 | 2 | 0 | 40 | 42 |
| Parasítica | Fortul | 1 | 6 | M1 | 44 | 20 | 11 | 0 | 75 |
| Parasítica | Fortul | 1 | 4 | M1 | 248 | 51 | 16 | 0 | 315 |
| Parasítica | Fortul | 4 | 1 | M1 | 57 | 9 | 13 | 0 | 79 |
| Parasítica | Fortul | 3 | 6 | M1 | 42 | 24 | 19 | 0 | 85 |
| Parasítica | Fortul | 4 | 6 | M1 | 45 | 8 | 2 | 0 | 55 |
| Parasítica | Fortul | 4 | 5 | M1 | 325 | 128 | 34 | 0 | 487 |

| | | | | | | | | | |
|---------------|---------------|---|-------------|----|-----|----|----|-----|-----|
| Parasítica | Fortul | 2 | 2 | M1 | 13 | 2 | 0 | 0 | 15 |
| Parasítica | Fortul | 2 | 3 | M1 | 29 | 9 | 6 | 0 | 44 |
| Parasítica | Fortul | 2 | 1 | M1 | 34 | 20 | 6 | 0 | 60 |
| Parasítica | Fortul | 2 | 1 | M1 | 39 | 17 | 8 | 0 | 64 |
| Parasítica | Fortul | 2 | 4 | M1 | 26 | 15 | 7 | 0 | 48 |
| Parasítica | Fortul | 2 | 5 | M1 | 6 | 2 | 3 | 0 | 11 |
| Parasítica | Fortul | 2 | 6 | M1 | 104 | 58 | 6 | 0 | 168 |
| Parasítica | Fortul | 3 | 1 | M1 | 41 | 8 | 0 | 0 | 49 |
| Parasítica | Fortul | 3 | 2 | M1 | 15 | 10 | 4 | 0 | 29 |
| Parasítica | Fortul | 1 | 3 | M1 | 67 | 19 | 13 | 0 | 99 |
| Parasítica | Fortul | 2 | 1 | M1 | 80 | 26 | 2 | 0 | 108 |
| Parasítica | Fortul | 2 | 8 | M1 | 84 | 4 | 0 | 0 | 88 |
| Parasítica | Fortul | 2 | 1 | M1 | 30 | 1 | 0 | 0 | 31 |
| Parasítica | Fortul | 2 | 4 | M1 | 44 | 15 | 1 | 0 | 60 |
| Parasítica | Fortul | 2 | 10 | M1 | 1 | 0 | 32 | 254 | 287 |
| Parasítica | Fortul | 2 | 5 | M1 | 125 | 47 | 7 | 0 | 179 |
| Parasítica | Fortul | 2 | 6 | M1 | 42 | 3 | 3 | 0 | 48 |
| Parasítica | Fortul | 6 | 1 | M1 | 13 | 0 | 13 | 0 | 26 |
| Parasítica | Fortul | 6 | 2 | M1 | 21 | 5 | 24 | 1 | 51 |
| Parasítica | Fortul | 6 | 3 | M1 | 11 | 3 | 10 | 4 | 28 |
| Parasítica | Fortul | 6 | 4 y 5 | M1 | 9 | 0 | 0 | 9 | 18 |
| Parasítica | Fortul | 6 | 6 | M1 | 32 | 0 | 12 | 20 | 64 |
| Parasítica | Fortul | 6 | 7 | M1 | 17 | 0 | 9 | 8 | 34 |
| Parasítica | Fortul | 6 | 9 | M1 | 7 | 2 | 9 | 0 | 18 |
| Parasítica | Fortul | 6 | 1, 2, 3 y 4 | M2 | 26 | 2 | 28 | 0 | 56 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 4 | 4 y 6 | M1 | 58 | 15 | 5 | 0 | 78 |
| No parasítica | Puerto Rondón | 5 | 0 | M1 | 0 | 0 | 0 | 68 | 68 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 7 | 1 y 2 | M1 | 8 | 3 | 34 | 0 | 45 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 3 | 5 | M1 | 17 | 12 | 6 | 0 | 35 |

| | | | | | | | | | |
|---------------|---------------|---|-------------|----|-----|-----|----|----|-----|
| Parasítica | Puerto Rondón | 1 | 2 | M1 | 116 | 59 | 34 | 16 | 225 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 3 | 3 | M1 | 156 | 25 | 6 | 0 | 187 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 3 | 7 | M1 | 61 | 29 | 7 | 0 | 97 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 4 | 2 | M1 | 24 | 14 | 8 | 0 | 46 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 4 | 1 | M1 | 41 | 17 | 11 | 4 | 73 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 3 | 1 | M1 | 128 | 48 | 9 | 0 | 185 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 1 | 6 | M1 | 188 | 138 | 54 | 0 | 380 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 8 | 2 y 3 | M1 | 36 | 18 | 13 | 0 | 67 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 5 | 4 | M1 | 27 | 11 | 7 | 0 | 45 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 5 | 1 y 2 | M1 | 11 | 8 | 16 | 0 | 35 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 3 | 3 | M1 | 60 | 31 | 5 | 0 | 96 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 3 | 4 | M1 | 118 | 71 | 24 | 0 | 213 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 3 | 7 | M1 | 234 | 113 | 6 | 2 | 355 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 5 | 5 | M1 | 14 | 1 | 3 | 0 | 18 |
| No parasítica | Puerto Rondón | 3 | 0 | M1 | 0 | 0 | 2 | 9 | 11 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 1 | 4 | M1 | 134 | 37 | 4 | 0 | 175 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 2 | 2 | M1 | 120 | 132 | 60 | 0 | 312 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 7 | 5, 6, 7 y 8 | M1 | 22 | 10 | 7 | 0 | 39 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 3 | 2 | M1 | 133 | 49 | 8 | 0 | 190 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 1 | 3 | M1 | 189 | 72 | 20 | 0 | 281 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 1 | 1 | M1 | 147 | 57 | 3 | 0 | 207 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 1 | 1 | M2 | 10 | 2 | 0 | 0 | 12 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 1 | 2 | M1 | 21 | 0 | 0 | 0 | 21 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 5 | 2 | M2 | 24 | 3 | 0 | 0 | 27 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 1 | 2 | M2 | 20 | 1 | 0 | 0 | 21 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 3 | 4 | M1 | 15 | 9 | 1 | 0 | 25 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 1 | 3 | M1 | 3 | 2 | 12 | 0 | 17 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 1 | 2 | M1 | 4 | 0 | 0 | 0 | 4 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 2 | 2 | M2 | 18 | 5 | 1 | 0 | 24 |

| | | | | | | | | | |
|---------------|---------------|---|------------|----|-----|-----|-----|----|-----|
| Parasítica | Puerto Rondón | 3 | 2 | M2 | 25 | 5 | 1 | 0 | 31 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 5 | 3 | M2 | 12 | 5 | 0 | 0 | 17 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 1 | 4 | M1 | 12 | 3 | 0 | 0 | 15 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 1 | 5 | M1 | 23 | 24 | 14 | 0 | 61 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 2 | 1 | M2 | 30 | 10 | 5 | 0 | 45 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 5 | 1 | M2 | 25 | 3 | 0 | 0 | 28 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 1 | 1 | M1 | 9 | 1 | 0 | 0 | 10 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 1 | 6 | M1 | 10 | 10 | 17 | 0 | 37 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 3 | 2 | M2 | 22 | 1 | 5 | 0 | 28 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 3 | 1 | M1 | 29 | 14 | 0 | 0 | 43 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 3 | 3 | M1 | 17 | 29 | 0 | 0 | 46 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 2 | 3 | M2 | 3 | 2 | 0 | 0 | 5 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 3 | 3 | M2 | 25 | 15 | 14 | 0 | 54 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 1 | 3 | M2 | 13 | 0 | 0 | 0 | 13 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 1 | 4 | M1 | 17 | 4 | 6 | 0 | 27 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 8 | 6, 7 y 8 | M1 | 19 | 13 | 28 | 0 | 60 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 7 | 3 y 4 | M1 | 85 | 15 | 0 | 0 | 100 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 7 | 2 | M1 | 263 | 50 | 6 | 0 | 319 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 4 | 3 y 5 | M1 | 24 | 10 | 2 | 0 | 36 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 6 | 1 | M1 | 25 | 12 | 4 | 0 | 41 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 6 | 4 | M1 | 52 | 16 | 4 | 0 | 72 |
| No parasítica | Puerto Rondón | 5 | 0 | M1 | 0 | 1 | 0 | 15 | 16 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 1 | 5 | M1 | 60 | 14 | 5 | 0 | 79 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 2 | 5 | M1 | 56 | 26 | 2 | 1 | 85 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 8 | 4 y 5 | M1 | 15 | 16 | 38 | 0 | 69 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 8 | 9, 10 y 11 | M1 | 13 | 5 | 6 | 0 | 24 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 8 | 1, 3 y 4 | M1 | 41 | 20 | 2 | 0 | 63 |
| Parasítica | Puerto Rondón | 2 | 3 y 4 | M1 | 32 | 14 | 15 | 0 | 61 |
| Parasítica | Saravena | 6 | 3 | M1 | 254 | 151 | 145 | 0 | 550 |

| | | | | | | | | | |
|---------------|----------|---|-------|----|-----|-----|-----|----|-----|
| Parasítica | Saravena | 5 | 7 | M1 | 34 | 17 | 34 | 0 | 85 |
| Parasítica | Saravena | 5 | 2 | M1 | 40 | 14 | 3 | 0 | 57 |
| Parasítica | Saravena | 5 | 6 | M1 | 110 | 32 | 22 | 0 | 164 |
| Parasítica | Saravena | 6 | 9 | M2 | 227 | 76 | 18 | 0 | 321 |
| Parasítica | Saravena | 6 | 9 | M1 | 46 | 4 | 2 | 0 | 52 |
| No parasítica | Saravena | 5 | 0 | M1 | 0 | 0 | 0 | 33 | 33 |
| Parasítica | Saravena | 6 | 1 | M1 | 71 | 8 | 8 | 0 | 87 |
| Parasítica | Saravena | 6 | 6 | M1 | 352 | 157 | 22 | 0 | 531 |
| Parasítica | Saravena | 6 | 4 | M1 | 270 | 69 | 48 | 0 | 387 |
| Parasítica | Saravena | 4 | 6 | M1 | 54 | 26 | 11 | 0 | 91 |
| Parasítica | Saravena | 4 | 2 | M1 | 212 | 96 | 18 | 0 | 326 |
| Parasítica | Saravena | 1 | 1 | M1 | 10 | 3 | 1 | 0 | 14 |
| Parasítica | Saravena | 3 | 2 | M1 | 45 | 13 | 15 | 0 | 73 |
| Parasítica | Saravena | 3 | 5 | M1 | 36 | 27 | 96 | 0 | 159 |
| Parasítica | Saravena | 1 | 2 | M1 | 22 | 2 | 0 | 0 | 24 |
| Parasítica | Saravena | 4 | 3 | M1 | 53 | 22 | 29 | 0 | 104 |
| Parasítica | Saravena | 3 | 1 | M1 | 57 | 69 | 170 | 0 | 296 |
| Parasítica | Saravena | 1 | 7 | M1 | 49 | 8 | 1 | 0 | 58 |
| Parasítica | Saravena | 1 | 4 | M1 | 48 | 29 | 27 | 0 | 104 |
| Parasítica | Saravena | 3 | 6 | M1 | 55 | 63 | 172 | 0 | 290 |
| Parasítica | Saravena | 2 | 3 | M1 | 14 | 3 | 5 | 0 | 22 |
| Parasítica | Saravena | 2 | 2 y 3 | M1 | 20 | 7 | 16 | 0 | 43 |
| No parasítica | Saravena | 4 | 0 | M1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| Parasítica | Saravena | 5 | 3 | M1 | 117 | 80 | 69 | 0 | 266 |
| Parasítica | Saravena | 4 | 4 | M1 | 79 | 20 | 0 | 0 | 99 |
| No parasítica | Saravena | 3 | 0 | M1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 |
| Parasítica | Saravena | 2 | 1 | M1 | 66 | 38 | 12 | 0 | 116 |
| Parasítica | Saravena | 4 | 5 | M1 | 87 | 38 | 3 | 0 | 128 |
| Parasítica | Saravena | 1 | 3 | M1 | 5 | 0 | 0 | 0 | 5 |

| | | | | | | | | | |
|---------------|----------|---|--------|----|-----|-----|----|-----|-----|
| Parasítica | Saravena | 3 | 3 | M1 | 116 | 59 | 6 | 0 | 181 |
| Parasítica | Saravena | 2 | 4 | M1 | 26 | 8 | 5 | 0 | 39 |
| Parasítica | Saravena | 3 | 4 | M1 | 44 | 32 | 87 | 0 | 163 |
| Parasítica | Saravena | 6 | 1 | M1 | 60 | 20 | 27 | 0 | 107 |
| Parasítica | Saravena | 4 | 1 | M1 | 195 | 119 | 37 | 0 | 351 |
| Parasítica | Saravena | 9 | 10 | M2 | 25 | 16 | 3 | 0 | 44 |
| Parasítica | Saravena | 9 | 9 | M1 | 29 | 47 | 20 | 0 | 96 |
| Parasítica | Saravena | 9 | 8 | M1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| Parasítica | Tame | 1 | 7 | M1 | 107 | 38 | 0 | 0 | 145 |
| Parasítica | Tame | 4 | 5 | M1 | 1 | 1 | 14 | 1 | 17 |
| Parasítica | Tame | 4 | 9 y 10 | M1 | 9 | 8 | 0 | 26 | 43 |
| Parasítica | Tame | 4 | 7 | M1 | 0 | 0 | 9 | 53 | 62 |
| No parasítica | Tame | 2 | 0 | M1 | 0 | 0 | 0 | 26 | 26 |
| Parasítica | Tame | 3 | 2 | M1 | 125 | 20 | 1 | 0 | 146 |
| Parasítica | Tame | 1 | 3 | M1 | 28 | 15 | 9 | 0 | 52 |
| Parasítica | Tame | 3 | 7 | M1 | 83 | 57 | 25 | 0 | 165 |
| Parasítica | Tame | 5 | 8 y 9 | M1 | 7 | 7 | 5 | 2 | 21 |
| Parasítica | Tame | 5 | 10 | M1 | 21 | 2 | 0 | 0 | 23 |
| Parasítica | Tame | 7 | 2 | M1 | 21 | 6 | 5 | 0 | 32 |
| Parasítica | Tame | 4 | 6 y 7 | M1 | 8 | 0 | 10 | 154 | 172 |
| Parasítica | Tame | 5 | 1 | M1 | 137 | 59 | 8 | 0 | 204 |
| Parasítica | Tame | 7 | 5 | M1 | 89 | 69 | 34 | 3 | 195 |
| Parasítica | Tame | 1 | 2 | M1 | 15 | 5 | 3 | 0 | 23 |
| Parasítica | Tame | 1 | 1 | M1 | 9 | 7 | 11 | 0 | 27 |
| Parasítica | Tame | 1 | 5 y 6 | M1 | 3 | 0 | 1 | 0 | 4 |
| Parasítica | Tame | 1 | 1 | M1 | 136 | 68 | 23 | 0 | 227 |
| Parasítica | Tame | 4 | 1 y 4 | M1 | 6 | 2 | 14 | 0 | 22 |
| Parasítica | Tame | 5 | 3 y 5 | M1 | 108 | 58 | 4 | 0 | 170 |
| Parasítica | Tame | 3 | 6 | M1 | 165 | 38 | 10 | 0 | 213 |

| | | | | | | | | | |
|---------------|------|---|-------|----|-----|----|----|------|------|
| Parasítica | Tame | 3 | 4 | M1 | 84 | 26 | 3 | 0 | 113 |
| Parasítica | Tame | 1 | 1 | M1 | 95 | 19 | 0 | 0 | 114 |
| Parasítica | Tame | 7 | 3 | M1 | 67 | 17 | 14 | 0 | 98 |
| Parasítica | Tame | 5 | 7 | M1 | 48 | 23 | 5 | 0 | 76 |
| Parasítica | Tame | 3 | 2 | M1 | 318 | 60 | 78 | 0 | 456 |
| Parasítica | Tame | 5 | 7 | M1 | 48 | 22 | 5 | 0 | 75 |
| Parasítica | Tame | 7 | 3 | M1 | 67 | 15 | 14 | 0 | 96 |
| Parasítica | Tame | 3 | 5 | M1 | 184 | 49 | 5 | 0 | 238 |
| Parasítica | Tame | 1 | 5 | M1 | 15 | 12 | 6 | 0 | 33 |
| Parasítica | Tame | 3 | 3 | M1 | 241 | 38 | 5 | 0 | 284 |
| Parasítica | Tame | 5 | 2 | M1 | 55 | 17 | 5 | 0 | 77 |
| No parasítica | Tame | 3 | 0 | M1 | 0 | 0 | 0 | 1957 | 1957 |
| Parasítica | Tame | 6 | 6 | M1 | 3 | 0 | 2 | 0 | 5 |
| Parasítica | Tame | 1 | 8 | M1 | 42 | 4 | 3 | 0 | 49 |
| Parasítica | Tame | 7 | 4 | M1 | 72 | 48 | 28 | 0 | 148 |
| Parasítica | Tame | 1 | 4 | M1 | 14 | 1 | 8 | 0 | 23 |
| No parasítica | Tame | 5 | 0 | M1 | 0 | 0 | 0 | 28 | 28 |
| Parasítica | Tame | 1 | 3 | M1 | 9 | 5 | 1 | 0 | 15 |
| Parasítica | Tame | 1 | 6 | M1 | 71 | 28 | 5 | 0 | 104 |
| Parasítica | Tame | 5 | 4 y 6 | M1 | 25 | 22 | 16 | 0 | 63 |
| No parasítica | Tame | 4 | 0 | M1 | 0 | 0 | 0 | 11 | 11 |
| Parasítica | Tame | 2 | 7 | M1 | 95 | 17 | 2 | 0 | 114 |
| Parasítica | Tame | 2 | 6 | M1 | 27 | 12 | 26 | 0 | 65 |
| Parasítica | Tame | 2 | 5 | M1 | 20 | 15 | 8 | 0 | 43 |
| Parasítica | Tame | 2 | 4 | M1 | 48 | 18 | 10 | 0 | 76 |
| Parasítica | Tame | 2 | 3 | M1 | 77 | 55 | 39 | 0 | 171 |
| Parasítica | Tame | 2 | 2 | M1 | 31 | 13 | 8 | 0 | 52 |
| Parasítica | Tame | 2 | 1 | M1 | 220 | 88 | 31 | 8 | 347 |
| No parasítica | Tame | 2 | 0 | M1 | 0 | 0 | 0 | 13 | 13 |

